



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA NÚCLEO DE CIÊNCIAS
EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE PLANTAS MEDICINAIS DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL**

VALÉRIA MORENO MARTÃO

Porto Velho (RO)

2013



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA NÚCLEO DE CIÊNCIAS
EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE**

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE PLANTAS MEDICINAIS DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL**

VALÉRIA MORENO MARTÃO

Orientador: Prof^ª Dr Mariangela Soares de Azevedo

*Dissertação de Mestrado apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento
Regional e Meio Ambiente, Área de Concentração em
Meio Ambiente, para obtenção do Título de Mestre em
Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.*

Porto Velho (RO)

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Biblioteca Central Prof.º Roberto Duarte Pires

M375a

Martão, Valéria Moreno.

Atividade antioxidante *in vitro* de plantas medicinais da Amazônia Ocidental / Valéria Moreno Martão, 2013. 97f.: il.

Orientadora: Mariangela Soares de Azevedo

Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) – Fundação Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, 2013.

1. Amazônia Ocidental. 2. 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). 3. Radical Livre. I. Fundação Universidade Federal de Rondônia. UNIR. II. Título.

CDU: 633.8

Bibliotecária responsável: Eliane Gemaque Gomes Barros CRB 11-549

VALÉRIA MORENO MARTÃO

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE PLANTAS MEDICINAIS DA AMAZÔNIA
OCIDENTAL**

Banca Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Mariangela Soares de Azevedo
(Orientadora)

Prof^ª. Dr^ª. Adaiane Spinelli

Prof. Dr. Wanderley Rodrigues Bastos

Prof. Dr. Ângelo Gilberto Manzatto
(Suplente)

Porto Velho, _____ de _____ de _____.

Resultado _____.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família que sempre me apoiou em minhas escolhas, a minha orientadora pelo suporte e paciência, ao meu namorado por me ajudar em cada decisão e as amigas de laboratório pela ajuda.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar a oportunidade de viver e trilhar o meu caminho ao lado das pessoas que mais amo.

A minha mãe Norma e meu pai Wilson, que me apoiaram e me incentivaram a estar onde estou hoje e sempre, e por me dar amor e carinho que nunca deixaram faltar em minha vida.

Ao meu irmão Bruno, pelo carinho e amizade.

A minha orientadora Dra. Mariangela Soares de Azevedo por me acolher e acreditar em meu potencial, pelas conversas e risadas proporcionadas ao longo desse tempo de convivência e pela paciência.

Ao meu noivo Rodrigo, por me apoiar em minhas decisões, por me aguentar nas horas de estresse e pelo amor e carinho.

Aos meus companheiros do LABFITO, Carla, Rafaela, Jussara, Carol, que sempre estão dispostos a ajudar uns aos outros, pelas brincadeiras e gargalhadas durante esse tempo e pela amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro através do Projeto CT-Amazônia 2008.

Ao PPBio pela por disponibilizar espécies de plantas para realização desta pesquisa.

Aos professores do PGDRA pela troca de conhecimento.

RESUMO

O presente trabalho procurou avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico e das frações, de plantas encontradas na Amazônia Ocidental. As plantas testadas para a atividade antioxidante foram: *Bertholletia excelsa*, *Eleutherine bulbosa*, *Piper obliquum*, *Protium subserratum* e *Protium trifoliolatum*. Atualmente há muitos estudos voltados a inibição dos radicais livres, estes são muitos importantes devidos as várias doenças relacionadas à estes. O método utilizado para essa avaliação foi o de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). O DPPH em solução apresenta uma coloração roxa e ao reagir com um antioxidante perde essa coloração e ganha uma cor amarelada. Foi utilizada a técnica da espectroscopia de absorção na região de UV-Visível para a realização da leitura das amostras, obtendo-se assim as porcentagens da atividade antioxidante das mesmas, em variadas concentrações. Os resultados foram apresentados na forma de porcentagem e índice de inibição do radical livre DPPH (EC₅₀). As plantas *Piper obliquum*, *Protium subserratum*, *Protium trifoliolatum* e casca da *Bertholletia excelsa* apresentaram valores de inibição do DPPH menores ou aproximados quando comparados com os resultados do padrão utilizado *Ginkgo biloba*, exceto as frações clorofórmio dessas plantas que apresentaram altos valores de EC₅₀. As plantas *Eleutherine bulbosa* e ouriço da *Bertholletia excelsa* não apresentaram valores expressivos.

Palavras-chave: Amazônia ocidental; 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); Radical Livre.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antioxidant activity of the ethanol extract and fractions of plants found in the Western Amazon. Plants tested for antioxidant activity were subline *Bertholletia excelsa*, *Eleutherine bulbosa*, *Piper obliquum*, *Protium subserratum* and *Protium trifoliolatum*. Currently there are many studies regarding the inhibition of free radicals, these are very important due to the various diseases related to the action of free radicals. The method used for this evaluation was the kidnapping of free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl). The DPPH solution has a purple color and an antioxidant by reacting with loses the color and get a yellowish color. The absorption spectroscopy technique was used in the UV-visible region to perform the reading of samples, thus obtaining the percentage of the antioxidant activity thereof, in varying concentrations. The results were presented as percentage and rate of inhibition of free radical DDPH (EC50). Plants *Piper obliquum*, *Protium subserratum*, *Protium trifoliolatum* and bark *Bertholletia excelsa* showed inhibition values of DPPH or approximate lower when compared with the results of the standard used *Ginkgo biloba*, except chloroform fractions of these plants showed high values of EC50. The *Eleutherine bulbosa* plants and hedgehog *Bertholletia excelsa* showed no significant values.

Keywords: Western Amazon; 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH); Free Radical.

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Microgramas
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
%AAO	Porcentagem de Atividade antioxidante
Abs	Absorbância
AC	Acre
Acet	Acetona
AM	Amazonas
BHA	Butil-hidroxianisol
BHT	Butil-hidrotolueno
CHCl ₃	Clorofórmio
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil
DPPH-H	2,2-difenil-1-picril hidrazila
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EC ₅₀	Concentração necessária para reduzir 50% de concentração inicial do DPPH
EGb 761	Extrato padronizado de <i>Ginkgo biloba</i>
ERN	Espécies reativas do nitrogênio
EROs	Espécies reativas do oxigênio
ESEC	Estação Ecológica do Cuniã
EtOAc	Acetato de Etila
EtOH	Etanol
g	Gramas
Hex	Hexano
HS-CG	Cromatografia Gasosa de Headspace
Km	Kilômetros
LABFITO	Laboratório de Fitoquímica
MeOH	Metanol
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mM	Milimol
NF-kB	Factor Nuclear kappa B
nm	Nanômetro
OMS	Organização mundial da saúde
PAF	Fator de ativação de plaquetas
PPBio	Programa de pesquisa em biodiversidade
RO	Rondônia
RON	Herbário Rondoniense
UNIR	Universidade Federal de Rondônia
UV/VIS	Ultravioleta/Visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processo de formação dos EROs	16
Figura 2: Molécula de DPPH	19
Figura 3: (a) Reação do DPPH com um antioxidante genérico (AH) doador de hidrogênio; (b) Reação do DPPH com um radical (R).	20
Figura 4: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários	21
Figura 5: Características da <i>Protium subserratum</i> (Engl.) Engl.	26
Figura 6: Características da <i>Protium trifoliolatum</i> Engl.	26
Figura 7: Espécime de <i>Piper obliquum</i>	28
Figura 8: Espécime de <i>Eleutherine bulbosa</i>	29
Figura 9: (a) Espécime e (b) Ouriços e Castanhas da <i>Bertholletia excelsa</i>	30
Figura 10: Organograma do estudo fitoquímico.	36
Figura 11: (a) Pastilha prepara com o extrato etanólico e sílica gel; (b) Coluna Filtrante.	37
Figura 12: (a) Espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu); (b) Cubetas de análise	39
Figura 13: Exemplo de espectro obtido no UV/VIS (<i>Eleutherine bulbosa</i> – fração MeOH)	43
Figura 14: EC ₅₀ do extrato/frações <i>Piper obliquum</i> .	46
Figura 15: EC ₅₀ dos extratos/frações das espécies de <i>Protium</i> .	47
Figura 16: EC ₅₀ do extrato/frações da <i>Eleutherine bulbosa</i> .	48
Figura 17: EC ₅₀ dos extratos/frações da <i>Bertholletia excelsa</i> .	49
Figura 18: Estrutura do 25,30-dicarboxi-26,27,28,29-tetraacetoxi-10,11,14,15-tetrahidroqualene	51
Figura 19: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> casca – extrato EtOH	70
Figura 20: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> casca – extrato EtOH	70
Figura 21: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> casca – fração EtOAc	71
Figura 22: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> casca – fração	71
Figura 23: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> casca – fração Acet	72
Figura 24: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> casca – fração Acet	72
Figura 25: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – extrato EtOH	73
Figura 26: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – extrato EtOH	73
Figura 27: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração EtOAc	74
Figura 28: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração EtOAc	74
Figura 29: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração Acet	75
Figura 30: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração Acet	75
Figura 31: Espectro <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração MeOH	76
Figura 32: Regressão linear <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço – fração MeOH	76
Figura 33: Espectro <i>Eleutherine bulbosa</i> – extrato EtOH	77
Figura 34: Regressão linear <i>Eleutherine bulbosa</i> – extrato EtOH	77
Figura 35: Espectro <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração CHCl ₃	78
Figura 36: Regressão linear <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração CHCl ₃	78

Figura 37: Espectro <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração EtOAc	79
Figura 38: Regressão linear <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração EtOAc	79
Figura 39: Espectro <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração MeOH	80
Figura 40: Regressão linear <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração MeOH	80
Figura 41: Espectro <i>Piper obliquum</i> – extrato EtOH	81
Figura 42: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – extrato EtOH	81
Figura 43: Espectro <i>Piper obliquum</i> – fração Hex	82
Figura 44: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – fração Hex	82
Figura 45: Espectro <i>Piper obliquum</i> – fração CHCl ₃	83
Figura 46: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – fração CHCl ₃	83
Figura 47: Espectro <i>Piper obliquum</i> – fração EtOAc	84
Figura 48: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – fração EtOAc	84
Figura 49: Espectro <i>Piper obliquum</i> – fração Acet	85
Figura 50: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – fração Acet	85
Figura 51: Espectro <i>Piper obliquum</i> – fração MeOH	86
Figura 52: Regressão linear <i>Piper obliquum</i> – fração MeOH	86
Figura 53: Espectro <i>Protium subserratum</i> – extrato EtOH	87
Figura 54: Regressão linear <i>Protium subserratum</i> – extrato EtOH	87
Figura 55: Espectro <i>Protium subserratum</i> – fração CHCl ₃	88
Figura 56: Regressão linear <i>Protium subserratum</i> – fração CHCl ₃	88
Figura 57: Espectro <i>Protium subserratum</i> – fração EtOAc	89
Figura 58: Regressão linear <i>Protium subserratum</i> – fração EtOAc	89
Figura 59: Espectro <i>Protium subserratum</i> – fração Acet	90
Figura 60: Regressão linear <i>Protium subserratum</i> – fração Acet	90
Figura 61: Espectro <i>Protium subserratum</i> – fração MeOH	91
Figura 62: Regressão linear <i>Protium subserratum</i> – fração MeOH	91
Figura 63: Espectro <i>Protium trifoliolatum</i> – extrato EtOH	92
Figura 64: Regressão linear <i>Protium trifoliolatum</i> – extrato EtOH	92
Figura 65: Espectro <i>Protium trifoliolatum</i> – fração CHCl ₃	93
Figura 66: Regressão linear <i>Protium trifoliolatum</i> – fração CHCl ₃	93
Figura 67: Espectro <i>Protium trifoliolatum</i> – fração EtOAc	94
Figura 68: Regressão linear <i>Protium trifoliolatum</i> – fração EtOAc	94
Figura 69: Espectro <i>Protium trifoliolatum</i> – fração Acet	95
Figura 70: Regressão linear <i>Protium trifoliolatum</i> – fração Acet	95
Figura 71: Espectro <i>Protium trifoliolatum</i> – fração MeOH	96
Figura 72: Regressão linear <i>Protium trifoliolatum</i> – fração MeOH	96
Figura 73: Espectro <i>Ginkgo biloba</i>	97
Figura 74: Regressão linear <i>Ginkgo biloba</i>	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classes de substâncias dos extratos e frações	41
Tabela 2: Porcentagens de atividade antioxidante calculadas para as concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ das amostras	43
Tabela 3: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> casca – extrato EtOH	70
Tabela 4: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> casca - fração EtOAc	71
Tabela 5: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> casca - fração Acet	72
Tabela 6: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço - extrato EtOH	73
Tabela 7: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço - fração EtOAc	74
Tabela 8: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço - fração Acet	75
Tabela 9: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Bertholletia excelsa</i> ouriço - fração MeOH	76
Tabela 10: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Eleutherine bulbosa</i> – extrato EtOH	77
Tabela 11: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração CHCl_3	78
Tabela 12: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração EtOAc	79
Tabela 13: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Eleutherine bulbosa</i> – fração MeOH	80
Tabela 14: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – extrato EtOH	81
Tabela 15: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – fração Hex	82
Tabela 16: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – fração CHCl_3	83
Tabela 17: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – fração EtOAc	84
Tabela 18: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – fração Acet	85
Tabela 19: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Piper obliquum</i> – fração MeOH	86
Tabela 20: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium subserratum</i> – extrato EtOH	87
Tabela 21: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium subserratum</i> – fração CHCl_3	88
Tabela 22: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium subserratum</i> – fração EtOAc	89
Tabela 23: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium subserratum</i> – fração Acet	90
Tabela 24: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium subserratum</i> – fração MeOH	91
Tabela 25: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium trifoliolatum</i> – extrato EtOH	92
Tabela 26: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium trifoliolatum</i> – fração CHCl_3	93
Tabela 27: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium trifoliolatum</i> – fração EtOAc	94
Tabela 28: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium trifoliolatum</i> – fração Acet	95
Tabela 29: Concentrações, % AAO e EC_{50} da <i>Protium trifoliolatum</i> – fração MeOH	96
Tabela 30: Concentrações, % AAO e EC_{50} do <i>Ginkgo biloba</i>	97

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1 REFERENCIAL TEORICO	14
1.1 RADICAIS LIVRES	15
1.2 ESTRESSE OXIDATIVO	16
1.3 ANTIOXIDANTES (AO)	17
1.4 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	18
1.4.1 Atividade antioxidante pelo método do uso do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-Picril Hidrazil)	19
1.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	20
1.5.1 Flavonóides	22
1.5.2 Terpenos	23
1.5.3 Esteróides	23
1.5.4 Saponinas	24
1.6 FAMÍLIAS, GÊNEROS e ESPÉCIES	25
1.6.1 Família Burseraceae e o gênero <i>Protium</i>	25
1.6.2 Família Piperaceae e o gênero <i>Piper</i>	27
1.6.3 Família Iridaceae e o gênero <i>Eleutherine</i>	28
1.6.4 Família Lecythidaceae e o gênero <i>Bertholletia</i>	29
1.6.5 <i>Ginkgo biloba</i>	30
1.7 A IMPORTÂNCIA DE PESQUISAS COM PLANTAS NA AMAZÔNIA	31
2 OBJETIVOS	34
2.1 OBJETIVO GERAL	34
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO E FRAÇÕES	36
3.2 TESTES DE CLASSES DE SUBSTÂNCIAS	38
3.2.1 Esteróides e Terpenos (Reação de Lieberman Burchard)	38
3.2.2 Flavonóides (Reação de Shinoda)	38
3.2.3 Saponinas	38
3.3 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PARA ANÁLISE	38
3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AAO)	39
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
4 RESULTADOS	41
4.1 RESULTADOS DOS TESTES DE CLASSES DE SUBSTÂNCIAS	41
4.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS NA REGIÃO DO UV/VIS	42
4.3 PORCENTAGENS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PARA CONCENTRAÇÕES DE 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	43
4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO EC ₅₀	46
5 DISCUSSÃO	50

CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE	69

INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais como recurso terapêutico é tão antiga quanto a civilização humana e, por muito tempo, produtos minerais, vegetais e animais constituíram o arsenal terapêutico (RATES, 2001).

As plantas possuem a habilidade de produzir metabólitos secundários, existindo uma grande variedade desses, e são reconhecidas pelo seu uso na medicina popular para o tratamento de inúmeras doenças (CRAGG et al., 1999).

Há uma grande busca de novas drogas com potencial de inibir os radicais livres no organismo, e compostos produzidos pelas plantas são uma ótima fonte de antioxidantes, por isso que muitos pesquisadores têm estudado esses compostos.

Outro fator a ser considerado é a diversidade de plantas existentes na Amazônia, que valem ser investigadas, estimando-se que de 250-500 mil espécies, somente cerca de 5% tem sido estudadas e em menor porcentagem avaliadas biologicamente (BRAS-FILHO, 1994).

Aliar a atividade antioxidante à descoberta de novas drogas é de primordial importância, já que a flora brasileira nos permite voltar esforços para tal, a fim de descobrir princípios ativos que venham inibir a atuação dos radicais livres no organismo humano.

Dentre as patologias causadas por radicais livres pode-se citar doenças que tem sido amplamente estudadas no intuito de descoberta da cura destas: doença de Parkinson; doença de Alzheimer; mutações; câncer; síndrome demencial; doenças auto-imunes; entre outras (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Nesta pesquisa foi avaliada a atividade antioxidante *in vitro* de plantas medicinais coletadas dentro do município de Porto Velho/RO. Sendo utilizado o método do sequestro do radical livre DPPH, que tem sido amplamente utilizado por sua simplicidade e eficiência.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

Na medicina popular há vários exemplos de plantas utilizadas para os mais diversos fins, além de haver facilidade da disponibilização de recursos para serem investigados (LIMA e SANTOS, 2006).

No início da década de 90, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 60-85% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados da saúde (VEIGA et al., 2005).

Entre os 252 fármacos básicos ou essenciais selecionados pela Organização Mundial da Saúde (OMS), 11% são de origem exclusivamente vegetal e uma parcela significativa é preenchida por medicamentos sintéticos, obtidos a partir de precursores naturais (RATES, 2001).

Embora os vegetais contenham milhares de constituintes químicos, as propriedades terapêuticas estão especialmente relacionadas com os chamados metabólitos secundários, que são compostos micromoleculares evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas às plantas (BERTOLDI, 2006).

Alimentos que, além de fornecerem benefícios à saúde, auxiliam na redução do risco de doenças, são conhecidos como alimentos funcionais. Os componentes benéficos dos alimentos funcionais têm sido chamados de fitoquímicos, compostos funcionais ou componentes bioativos, e ocorrem naturalmente em aproximadamente 120 alimentos (PENNINGTON, 2002).

As substâncias antioxidantes presentes nos vegetais neutralizam a ação dos radicais livres e o consumo destas substâncias pode fortalecer o sistema imunológico, além de reduzir o risco de uma série de doenças (ZUQUE et al., 2004).

Atualmente, há um interesse crescente em todo o mundo para identificar compostos antioxidantes que são farmacologicamente ativos e possuem baixos efeitos colaterais, para o uso na medicina preventiva e indústria alimentícia. Como as plantas produzem grande quantidade de antioxidantes que previnem o estresse oxidativo causado pelos radicais livres, elas representam uma fonte em potencial de novos compostos com atividade antioxidante (REDDY et al., 2012).

Os antioxidantes ajudam os organismos a combater os danos causados pelo estresse oxidativo provenientes dos radicais livres (REDDY et al., 2012).

Há preferência para os antioxidantes naturais em vez dos antioxidantes de fontes sintéticas (ABDALLA e ROOZEN, 1999). Existe, portanto, um aumento paralelo da utilização de métodos para estimar a eficiência de substâncias tais como antioxidantes (SCHWARZ et al., 2001; SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

Os primeiros estudos a respeito de radicais livres se deram por volta de 1924. No entanto, só nos anos setenta, começaram a surgir trabalhos, relatando a importância dos radicais livres para os seres vivos, particularmente os aeróbicos (BAST et al., 1991).

1.1 RADICAIS LIVRES

O termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons desemparelhados na sua órbita externa (VANNUCCHI et al., 1998). Isto determina uma atração para um campo magnético, o que pode torna-lo altamente reativo, capaz de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora. Os radicais livres são formados em um cenário de reações de óxido-redução, isto é, ou cedem o elétron solitário, oxidando-se, ou recebem outro, reduzindo-se. Portanto os radicais livres ou provocam ou resultam dessas reações de óxido-redução (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007).

A grande maioria dos radicais livres possui como característica uma meia-vida muito curta, indo de minutos a nanossegundos, sendo capazes de reagir rapidamente com vários compostos ou atingir alvos celulares (VANNUCCHI et al., 1998).

O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta (BARREIROS et al., 2006).

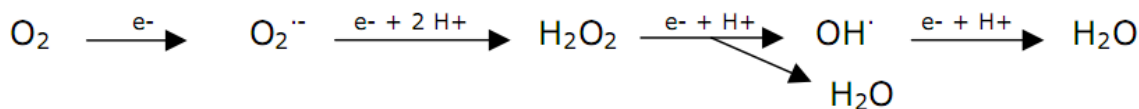
A maioria dos radicais livres age muito rapidamente, podendo ser produzidos com a mesma velocidade com que desaparecem, sendo que quando atacam podem transformar a molécula atacada em outro radical livre, gerando reações em cadeia bastante danosas (CHORILLI et al., 2007).

Entre as várias espécies de radicais livres estão principalmente as derivadas do oxigênio e os metais de transição (VANNUCCHI et al., 1998). Os radicais livres também podem ser formados por reações químicas envolvendo espécies reativas do nitrogênio (ERN), radicais do enxofre e radicais lipídicos (SALVADOR e HENRIQUES, 2004).

Oxigênio e seus derivados – A molécula de oxigênio, como ocorre naturalmente, com certeza, se qualifica como radical: ela tem dois elétrons não pareados, cada um deles

localizado em diferentes orbitais. Esses dois elétrons têm a mesma rotação espinorial, rotação paralela, sendo este o estado mais estável do oxigênio (VANNUCCHI et al, 1998).

Os radicais livres que derivam do oxigênio denominam-se genericamente “Espécies Reativas do Oxigênio” (EROs), conforme ilustrados na Figura 1. Estas também podem se referir às espécies que não são radicais livres, e sim algumas moléculas derivadas de oxigênio capazes de gerar radical livre, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (ABDALLA, 2006).



Fonte: RENZ, 2003

Figura 1: Processo de formação dos EROs

O esquema acima (Figura 1) mostra o ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o primeiro intermediário monovalente do oxigênio até água, a partir dele, são formados os demais EROs (RENZ, 2003).

No processo celular para obtenção de energia (cadeia respiratória) ocorre uma sequência de reações oxidativas sendo o oxigênio o aceptor final de elétrons. Dessa sequência resultam compostos como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidropoxila (HO_2^{\cdot}), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\cdot}), sendo encontradas em todos os sistemas biológicos (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; CATANIA et al., 2009).

As patologias envolvidas ao EROs são: envelhecimento; doença de Parkinson; acidente vascular cerebral; doença de Alzheimer; esclerose múltipla; catarata; mutações; câncer; síndrome demencial (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

Metais de transição – Todos os metais do quarto período da tabela periódica, com exceção do zinco, contêm elétrons não emparelhados, o que os qualifica como radicais. O fator de maior significado, em relação ao seu estado reativo, são suas valências variáveis, o que permite modificações do potencial de oxidação, envolvendo um elétron (HARRIS, 1992).

1.2 ESTRESSE OXIDATIVO

O organismo humano sofre ação constante de **ERO** e **ERN** geradas em processos inflamatórios, por alguma disfunção biológica ou proveniente dos alimentos (HARRIS, 1992).

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo. A ocorrência de

um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhada do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

O estresse oxidativo também pode resultar de: diminuição de antioxidantes; deficiência de antioxidantes na dieta alimentar ou dietas ricas em componentes que possam aumentar o estresse oxidativo (CHORILLI et al, 2007).

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas, tais como: as cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares. Os danos no DNA causados pelos radicais livres também desempenham um papel importante nos processos de mutagênese e carcinogênese (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

1.3 ANTIOXIDANTES (AO)

Antioxidantes são substâncias usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração decorrente da autooxidação (ADEGOKE et al., 1998). No entanto, como a ação dos antioxidantes não se restringe apenas a inibição da peroxidação dos lipídios, mas também a oxidação de outras moléculas, como proteínas, e o ácido desoxirribonucleico (DNA), dentre outras, pode-se definir antioxidantes, de modo mais amplo, como substâncias que, em pequenas concentrações, quando comparada às concentrações dos substratos oxidáveis, retardam ou previnem significativamente a oxidação dos mesmos (HALLIWELL, 1996).

Os antioxidantes são compostos aromáticos que contêm pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos, como o butil-hidroxianisol (BHA) e o butil-hidrotolueno (BHT), largamente utilizados pela indústria de alimentos; ou naturais, substâncias bioativas, como compostos organossulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (KITTS, 1994). Antioxidantes naturais são originados principalmente de plantas na forma de compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos, álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis), ácido ascórbico e carotenóides (REDDY et al., 2012).

Os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos (BIANCHI e ANTUNES, 1999):

- O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre.

- Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonoides e carotenoides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres.
- Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas.
- Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta a geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes.

Segundo Bianchi e Antunes (1999), os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças.

1.4 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo e pelo possível papel dessas substâncias na patogênese de diversas doenças (VANNUCHI et al., 1998). Métodos de avaliação de substâncias antioxidantes foram sendo desenvolvidos (KOLEVA et al., 2002).

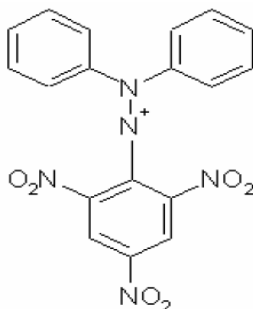
Um dos métodos amplamente utilizados hoje em dia foi descrito por Marco (1968) e consiste na perda da coloração de uma solução de β -caroteno devido a sua reação com os radicais formados pela oxidação do ácido linoleico. O método é considerado sensível devido a forte absorção do β -caroteno em 470 nm, é relativamente rápida, por ter uma demora de 2 horas de análise por amostra (KOLEVA et al., 2002).

Outro método utilizado é o HS-CG, que mede os produtos voláteis formados durante a decomposição lipídica dos hidroperóxidos, sendo considerado um método lento, por precisar de mais tempo nas análises (KOLEVA et al., 2002).

1.4.1 Atividade antioxidante pelo método do uso do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil)

Este método foi introduzido primeiramente por Blois (1958), onde foi relatado de modo sucinto todo o procedimento. O método é baseado na redução de soluções alcoólicas de DPPH· na presença de um antioxidante doador de hidrogênio, devido à formação de um não radical (DPPH-H) (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Esse radical é muitas vezes preferido na análise de sequestro de radicais livres em função da sua rapidez e simplicidade. A grande vantagem desse método é poder ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível (TOMEI e SALVADOR, 2007).

A molécula 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (α,α -difenil- β -picrilhidrazil) (Figura 2) é caracterizada como um radical livre estável, em virtude do deslocamento do elétron desemparelhado ao longo da molécula como um todo. O deslocamento também dá origem à cor violeta escuro, caracterizada por uma absorção na região do visível em solução alcoólica localizada entre 515 à 520 nm (MOLYNEUX, 2004).

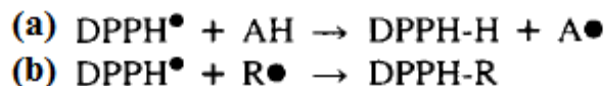


Fonte: CARPES (2008)

Figura 2: Molécula de DPPH

O radical estável, DPPH· é amplamente usado para avaliar a atividade antioxidante em compostos simples, extratos de plantas e alimentos (MENSOR et al., 2001; HUANG et al., 2005; REDDY et al., 2012).

O radical livre DPPH na presença de um antioxidante doador de hidrogênio pode ser reduzido em meio alcoólico, formando o difenil-picrilhidrazina (Figura 3) (KOLEVA et al., 2002).



Fonte: BRAND-WILLIAMS et al., (1995)

Figura 3: (a) Reação do DPPH com um antioxidante genérico (AH) doador de hidrogênio; (b) Reação do DPPH com um radical (R).

Esta redução pode ser acompanhada por espectrofotometria, na faixa entre 515-520 nm, pela diminuição da absorbância, com simultânea mudança de coloração violeta escura original do radical para uma coloração amarela do produto reduzido, perdendo a cor à medida que a reação se processa. Quanto maior a atividade antioxidante, menor será a coloração violeta da solução, ou seja, o DPPH• residual mensurado após certo tempo corresponde inversamente à capacidade antioxidante da substância analisada (CARPES, 2008).

A intensidade dessa mudança de coloração é proporcional à concentração das substâncias com potencial antioxidante presente, de conformidade com as leis de Lambert e Beer. Conforme o DPPH vai sendo reduzido por um antioxidante, seu elétron se torna emparelhado e a absorvidade desaparece (CARPES, 2008).

O resultado da atividade antioxidante pelo método do radical estável DPPH• pode ser expresso de várias formas. Por exemplo, pode-se expressar os resultados como a capacidade de sequestrar/reduzir o radical DPPH• em porcentagem, pelo valor de EC₅₀, ou seja, a quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH• e ainda pelo poder antioxidante ou poder anti-radical, o qual expressa a relação inversa do EC₅₀ (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Para o controle padrão antioxidante pode-se usar vários antioxidantes conhecidos naturais ou sintéticos, os mais utilizados são: vitamina C e E (BIANCHI e ANTUNES, 1999; SHAMI e MOREIRA, 2004), *Ginkgo biloba* (MENSOR et al., 2001), rutina e ácido gálico (CERQUEIRA et al., 2007; SOUSA et al., 2007) e BHT (MELO et al., 2003).

1.5 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

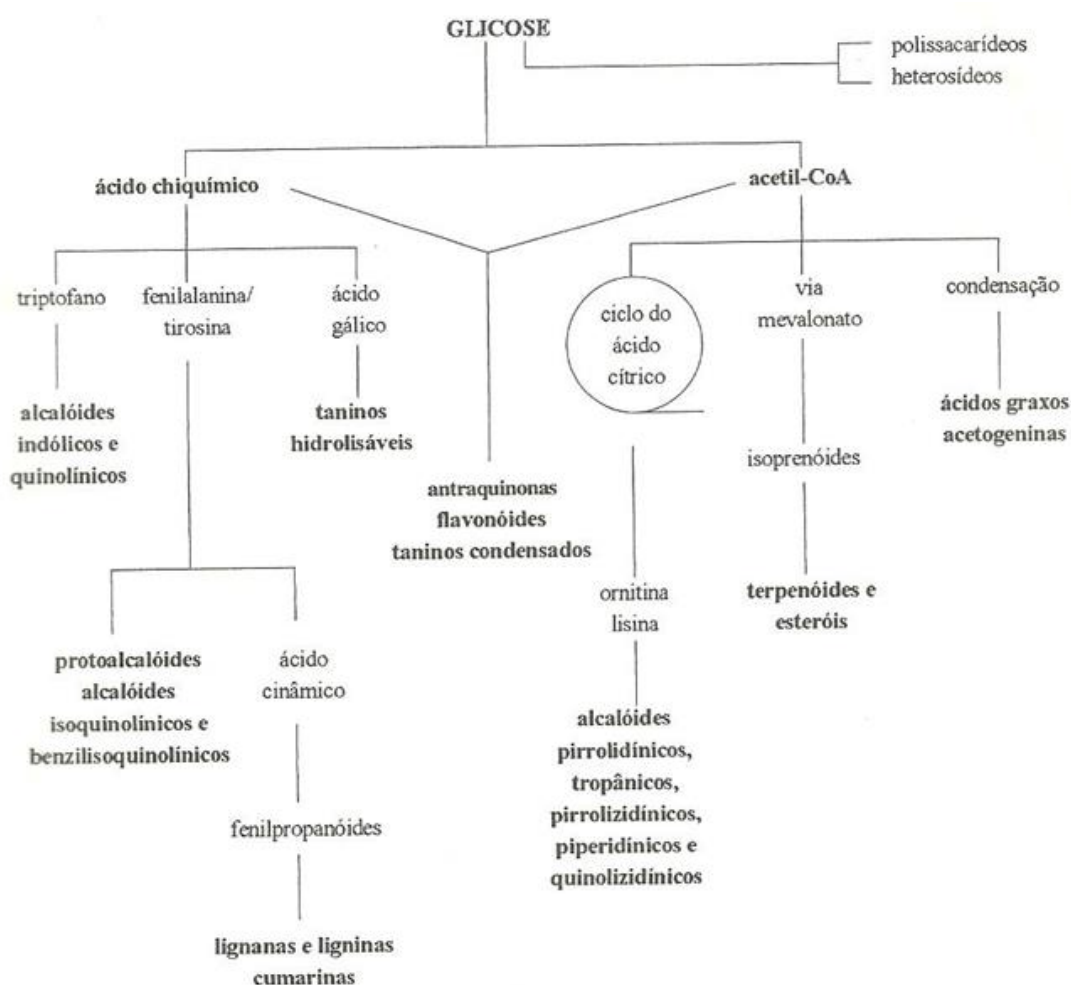
Todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie, até mesmo na quantidade do metabólito de um local de ocorrência ou ciclo de cultivo para outro, pois muitos deles têm sua síntese desencadeada por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas (FERREIRA et al., 2000).

Existem várias funções reconhecidas como pertencentes às substâncias da classe de metabólitos secundários, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microorganismos, a proteção contra os raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (WINK, 1990), bem como a participação em alelopatias (HARBORNE, 1988).

A presença de moléculas bioativas em plantas de interesse medicinal tem sido amplamente estudada nos últimos anos, devido à crescente popularidade dos medicamentos fitoterápicos (DINIZ et al., 2007).

Os compostos com ação bioativa de importância na farmacologia são produzidos através da biossíntese dos metabólitos secundários (MARIOT e BARBIERI, 2007).

A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários, o ácido chiquímico e o acetil-CoA (Figura 4) (SANTOS, 2003).



Fonte: SANTOS, 2003, p. 411

Figura 4: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários

Alguns metabólitos secundários derivam não apenas de um desses intermediários, mas são resultantes da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste, como é o caso das antraquinonas, dos flavonóides e dos taninos condensados (SANTOS, 2003).

Atualmente os compostos fenólicos são reconhecidos, por serem as principais substâncias com potencial de atividade antioxidante, por atuarem como sequestradores de radicais livres e como quelantes de metais, despertando assim o interesse de pesquisadores pela possibilidade de sua utilização no tratamento de várias doenças (HASLAM, 1998).

Os compostos fenólicos são classificados em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estibenos, taninos condensados e hidrolisáveis, ligninas e lignanas (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza estão os fenólicos encontrados geralmente em todo o reino vegetal, mas às vezes podem estar localizados em uma só planta. Estes fenólicos estão divididos em dois grandes grupos: os flavonóides e derivados e os ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (SOARES, 2002).

1.5.1 Flavonóides

Os flavonóides representam um dos grupos mais importantes entre os produtos de origem vegetal e são amplamente distribuídas no reino vegetal (MACHADO et al, 2008). Compreendem uma série de compostos secundários que ocorrem exclusivamente em plantas superiores, sendo responsáveis na planta, pela coloração das flores. Possuem uma unidade básica de 15 carbonos, que inclui dois anéis aromáticos hidroxilados, ligados entre si por um fragmento de 3 carbonos (DI STASI, 1996).

Os flavonóides possuem uma estrutura básica formada por $C_6-C_3-C_6$, sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal. Neste grupo encontram-se as antocianinas, flavonas, flavonóis e, com menos frequência, as auronas, calçonas e isoflavonas, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (SOARES, 2002).

Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas. Entre elas, pode-se citar a proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra microrganismos patogênicos, ação antioxidante, ação alelopática e inibição enzimática (MACHADO et al., 2008).

Entre suas atividades farmacológicas estão a anti-PAF, indutora da formação de hemoglobina, antiespasmódica e anti-hepatotóxica. Os flavonóides também são utilizados na produção de odores e sabores de alimentos e bebidas de origem vegetal (DI STASI, 1996).

A atividade antioxidante dos flavonóides é consequência das suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres. Dessa forma, eles demonstram grande eficiência no combate de vários tipos de moléculas oxidantes que estão envolvidos em danos no DNA e promoção de tumores (MACHADO et al., 2008).

1.5.2 Terpenos

Os terpenos constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo que esse termo é empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno (SIMÕES e SPITZER, 2003).

Os compostos terpenóides apresentam a segunda classe com maior número de constituintes ativos e estão subdivididos em várias subclasses. A composição molecular típica destes constituintes é $C_{10}H_{15}$. Estão subdivididos em monoterpenos (10 carbonos), sesquiterpenos (15 carbonos), diterpenos (20 carbonos), sesquiterpenos (25 carbonos), triterpenos (30 carbonos) e tetraterpenos (40 carbonos). Dentre essas subclasses estão sua ação antifúngica, antimicótica, antiúlcera, citotóxica, tratamento de dores musculares, reumatismo, dentre outras (DI STASI, 1996).

A grande maioria de trabalhos na literatura que se referem à terpenóides superiores, faz referência a observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (SIMÕES e SPITZER, 2003), sua importância ecológica como defensivos de plantas está bem estabelecida (VIEGAS Jr., 2003).

1.5.3 Esteróides

Os esteroides constituem um grupo químico perfeitamente individualizado e de grande homogeneidade estrutural e farmacológica (SIMÕES et al, 2003).

Alguns esteróides presentes na natureza são caracterizados pela sua alta especificidade e poderosa ação que exercem no músculo cardíaco. Esses esteróides ocorrem como

glicosídeos esteroidais e devido a sua ação sobre o músculo cardíaco, são denominados de glicosídeos cardioativos ou cardíacos (SIMÕES et al, 2003).

Os heterosídeos cardioativos são recomendados para o tratamento da insuficiência cardíaca congestiva, geralmente em associação a diuréticos (SIMÕES et al, 2003).

1.5.4 Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, que possui uma parte com característica lipofílica (terpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergente e emulsificante (^aSCHENKEL et al, 2003).

As saponinas são substâncias de elevada massa molecular (600 a 2000) e, de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença concomitante de estruturas com um número variado de açúcares ou ainda devido à presença de diversas agliconas. A cadeia de açúcares pode ser linear ou ramificada e uma das dificuldades na elucidação estrutural desses compostos está justamente em determinar os carbonos das ligações interglicosídicas. Por essas razões, o isolamento de saponinas, bem como a sua elucidação estrutural, podem ser muito difíceis. É por isso, também, que o conhecimento sobre a química e propriedades biológicas de saponinas desenvolveu-se apenas mais recentemente, paralelo à evolução das técnicas cromatográficas e espectroscópicas (^aSCHENKEL et al, 2003).

Apesar dessas dificuldades, ao longo do tempo, esse grupo de substâncias sempre tem sido de interesse farmacêutico, seja como adjuvante em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda, como matéria-prima para a síntese de esteróides (^aSCHENKEL et al, 2003).

Nas plantas, são encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos, por isso, são indicadas como fitoprotetoras. Tradicionalmente são utilizadas com expectorantes e diuréticas, podendo também ser utilizadas como adjuvantes para aumentar a resposta imunológica. Na indústria são utilizadas na preparação de emulsões para filmes fotográficos, em batons e xampus na indústria de cosméticos, e também como flavorizante e agente espumante na indústria alimentícia (^aSCHENKEL et al, 2003).

1.6 FAMÍLIAS, GÊNEROS e ESPÉCIES

As espécies trabalhadas foram escolhidas por serem espécies presentes e abundantes na flora da região amazônica.

1.6.1. Família Burseraceae e o gênero *Protium*

A família Burseraceae contém 18 gêneros com 700 espécies, divididas em três tribos: Protieae (três gêneros), Canarieae (oito gêneros) e Bursereae (sete gêneros). O gênero *Protium* (Tribe Protieae) é o membro da família, com 150 espécies (WEEKS et al., 2005). Todas estas espécies estão representadas na América do Sul, África e Malásia com a maior diversidade encontrada no Hemisfério Sul (MARQUINA-CHIDSEY et al., 2013).

Desde os primeiros inventários florestais realizados na Amazônia, as Burseraceae têm sido reconhecidas como altamente importantes, mas difíceis de diferenciar (MELO et al., 2007). Aproximadamente 80% das espécies de Burseraceae pertencem ao gênero *Protium* (SIANI et al., 1999).

O gênero *Protium* está representado em todas as matas do País, desde o norte até o extremo sul, reunindo desde espécies arbustivas, até arbóreas (CITÓ et al., 2006). Conhecido vulgarmente como breu na Amazônia brasileira, destaca-se pela diversidade de espécies na Amazônia, com aproximadamente 73 espécies ocorrentes, sendo cerca 42 endêmicas da região. Aproximadamente, 37 espécies de *Protium* foram confirmadas na Amazônia Central, através de levantamentos florísticos realizados na década de 90 (MELO et al., 2007).

Plantas desse gênero são conhecidas como excelente fonte de óleo-resina, e muitas das espécies tem comprovada atividade anti-inflamatória (SIANI et al., 1999), antimalarial (DEHARO et al., 2011), analgésica, expectorante e repelente de insetos (MARQUES et al., 2010).

Estas resinas são constituídas de triterpenos tetracíclicos (MAIA et al., 2000) e as folhas são usadas por serem aromáticas e, em algumas espécies, os frutos são comestíveis (MELO et al., 2007).

a) *Protium subserratum* (Engl.) Engl.

A *Protium subserratum* (Figura 5) geralmente está presente no dossel da floresta. Possui margens serreadas e nervura central na face superior subglabra. A espécie está presente ao norte da América do Sul (DALY, 1987).



Fonte: DALY, p.536,1987

Figura 5: Características da *Protium subserratum* (Engl.) Engl.

b) *Protium trifoliolatum* Engl.

A *Protium trifoliolatum* (Figura 6) está geralmente presente no sub-bosque da floresta. Apresenta nervura central na face superior pilosa e pêlos rígidos. A espécie está presente ao norte da América do Sul (DALY, 1987).



Fonte: DALY, p.536,1987

Figura 6: Características da *Protium trifoliolatum* Engl.

1.6.2 Família Piperaceae e o gênero *Piper*

A família Piperaceae é representada, no Brasil, por cinco gêneros, sendo a maioria arbustos ou trepadeiras, e raramente árvores. Os principais componentes desta família são os fenilpropanóides (VELOZO et al., 2006; FELIPPE et al., 2008), lignanas (MONACHE e COMPAGNONE, 1996), alcalóides (DODSON et al., 2000), derivados de Kempferol (FACUNDO et al., 2012), entre outros.

Espécies da família Piperaceae são bastante utilizadas na alimentação, como inseticidas, e também na medicina tradicional devido ao acúmulo de diferentes classes de metabólitos biologicamente ativos, tais como as amidas (NAVICKIENE et al., 2000; FACUNDO et al., 2008).

O gênero *Piper* tem mais de 700 espécies distribuídas em ambos os hemisférios. São ervas, arbustos e raramente árvores. As espécies de *Piper* tem grande importância comercial, econômica e medicinal (PARMAR et al., 1997). Muitas dessas espécies apresentam conhecidas atividades antiséptica, inseticida e antimicrobiana (NAVICKIENE et al., 2006; MORAIS et al., 2007; FAZOLIN et al., 2007; DUARTE et al., 2007).

A distribuição de espécies de *Piper* varia conforme o local. Existem várias espécies que são restritas a uma única localidade e outras ocorrem em toda a região neo-tropical ou paleo-tropical (JARAMILLO e MANOS, 2001).

a) *Piper obliquum* Ruiz & Pavon

Piper obliquum (Figura 7) é um arbusto que cresce nas florestas da América do Sul e Central (GUERRINI et al., 2009). A espécie *Piper obliquum* Ruiz e Pavon está entre as piperáceas utilizadas por comunidades tradicionais, pois possui ação anticoagulante, é fortificante para crianças (VALADEAU et al., 2010) e atua na eliminação de doenças da pele (VALADEAU et al., 2012).

Populações tradicionais tem usado a *P. obliquum* como antiinflamatório, isso é comprovado, já que compostos isolados, da classe alquenil-fenois, obliquol A e B mostraram-se moduladores do NF-kB (VALDIVA et al., 2008), mediadores de efeitos pro-inflamatórios (KARIN e BEN-NERIAH, 2000), além de apresentarem atividade antibacteriana comparada à ampicilina (VALDIVA et al., 2008).



Fonte: Jussara Rojas e Silva Aizzo

Figura 7: Espécime de *Piper obliquum*

1.6.3 Família Iridaceae e o gênero *Eleutherine*

Iridaceae é uma família composta por 1.900 espécies distribuídas em 65 gêneros, com uma distribuição praticamente em todo o mundo, com uma concentração maior na África, onde existem cerca de 1.190 espécies distribuídas em 37 gêneros. A família é conhecida pela variedade de suas flores, especialmente entre os gêneros presentes na África meridional. Na África, a diversidade de espécies está concentrada especialmente no sul, onde foram registradas mais de 1.050 espécies, cerca dos quais 720 estão restritas ao extremo sudoeste do continente (GOLDBLATT e MANNING, 2006).

As espécies de *Eleutherine*, com base na utilização medicinal popular, apresenta várias propriedades terapêuticas, incluindo a cicatrização de feridas e efeito anti-microbiano (VILLEGAS et al., 1997; IFESAN et al., 2009).

a) *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.

A *Eleutherine bulbosa* é um membro da família Iridaceae, presente na América do Sul (GUERRA, 1988). *Eleutherine bulbosa* (Figura 8) é utilizada em distúrbios menstruais e intestinais, dolorosas e irregulares (LIN et al., 2002), como agente abortivo e anti-fertilidade (ALVES et al., 2003).



Fonte: Elise Marques

Figura 8: (a) Flor e (b) bulbos do espécime de *Eleutherine bulbosa*

1.6.4 Família Lecythidaceae e o gênero *Bertholletia*

A Lecythidaceae, é um família de árvores de pequeno a grande porte nos trópicos de ambos os hemisférios. Ela é representada no velho mundo por três subfamílias: A Planchonioideae, principalmente na Ásia tropical; a Napoleonaeoideae, no oeste da África, mas com uma espécie na América do sul, a *Asteranthos brasiliensis*; e a Foetidioideae, em Madagascar, Índia e Malásia. Todas as espécies do novo mundo, exceto a *A. brasiliensis*, pertencem à quarta subfamília, o Lecythidoideae, sendo mais conhecido por dois membros que fornecem castanhas, *Bertholletia excelsa* e *Lecythis usitata* (PRANCE e MORI, 1978).

O gênero *Bertholletia* possui somente uma espécie, sendo essa a *B. Excelsa* (VIEIRA et al., 2008).

a) *Bertholletia excelsa* H. & B.

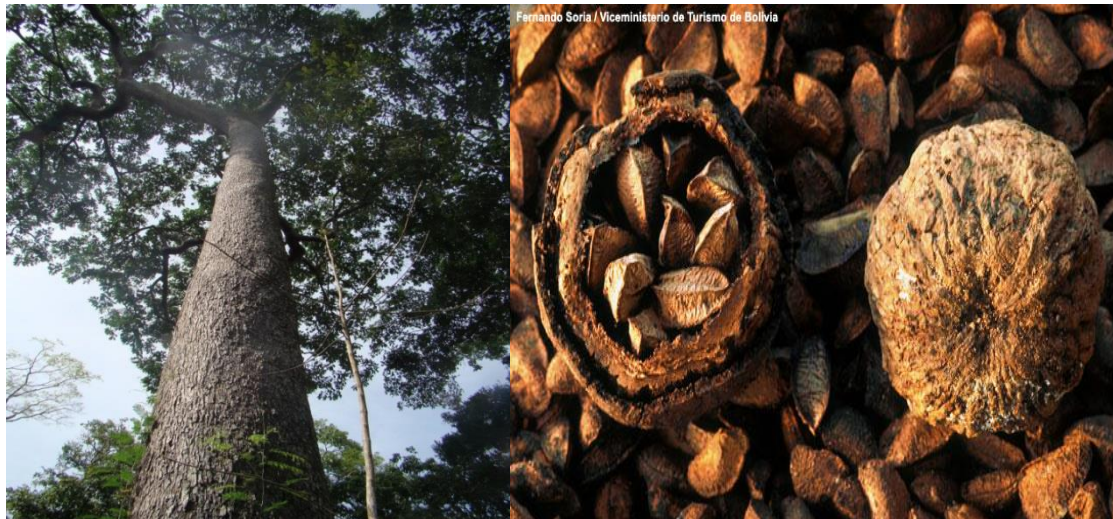
A castanheira-do-Brasil, castanheira-do-pará ou simplesmente castanheira, a *Bertholletia excelsa* H. & B. (Figura 9) chega a 50 m de altura, é considerada espécie social, pois supre frutos e renda para os comunitários locais (SALOMÃO et al., 2006). A *Bertholletia excelsa*, conhecida no Brasil como castanheira, está entre as árvores mais altas da floresta amazônica. Seus frutos são um dos principais produtos recolhidos e vendidos pelos extrativistas. Uma parte significativa da colheita de castanhas é exportada para outros países para serem adicionados a outros produtos (CAMARGO et al., 1994). Devido a sua importância para a economia regional, a *Bertholletia excelsa* está protegida por Lei, o corte e

a venda de madeira da castanheira foram proibidos desde 1987, no entretanto sua destruição continua (KITAMURA e MÜLLER, 1984).

Costa et al. (2010), quantificou os tocoferóis presentes em diversas espécies de plantas brasileiras (polpa de fruta e amêndoas), As amêndoas da *Bertholletia excelsa* mostraram uma quantidade de tocoferóis significativamente menor do que as espécies: *Couma rígida* M (Mucajá/castanhas), *Genipa americana* L. (Jenipapo/castanhas e polpa da fruta), *Maximiliana maripa* D. (Inajá/ polpa da fruta), *Mauritia flexuosa* L. (Buriti/ polpa da fruta), *Endopleura uchi* C. (Uxi/ polpa da fruta).

Em estudo realizado por Ferreira et al. (2006), foram testados as amêndoas, o óleo bruto e a torta da *Bertholletia excelsa*, a torta foi obtida pela prensagem e retirada do óleo das amêndoas. As amêndoas se apresentaram como uma fonte lipídica e protéica e a torta se mostrou um boa fonte protéica e de fibras. A análise da composição do óleo bruto se mostrou majoritariamente de ácidos graxos.

Vieira et al. (2008) estudou o padrão fenológico da *Bertholletia excelsa*, que se apresentou anual e sincronizado, concluiu assim que a espécie é interessante para o manejo voltado a produção de frutos.



Fonte: (a) <http://envolverde.com.br/ambiente/a-ecologia-no-brasil-e-o-desconhecimento-de-suas-possibilidades/>

(b) <http://www.amnh.org/education/resources/rfl/web/bolivia/bolivia.xml.en.html>

Figura 9: (a) Espécime e (b) Ouriços e Castanhas da *Bertholletia excelsa*

1.6.5 *Ginkgo biloba*

O *Ginkgo biloba* L. é uma planta medicinal que atrai o interesse em diversas áreas das ciências (^bSCHENKEL, et al., 2003).

Extratos das folhas do *Ginkgo biloba* tem uso terapêutico há séculos, sendo mencionado na farmacopéia tradicional chinesa. Os chineses usam o chá de partes da árvore de *Ginkgo biloba* para o tratamento de asma e bronquite. No ocidente os extratos padronizados das folhas dessa espécie são usadas para outras indicações terapêuticas e são administrados na forma de comprimido, líquido ou por via intravenosa. Esses extratos estão entre os medicamentos mais prescritos comumente (KLEIJNEN e KNIPSCHILD, 1992).

Seus principais constituintes químicos podem ser classificados em 2 grupos majoritários: terpenos (ginkgolides e bilobalide) e flavonóides (ginkgo-flavona glicosídeo) (KLEIJNEN e KNIPSCHILD, 1992).

1.7 A IMPORTÂNCIA DE PESQUISAS COM PLANTAS NA AMAZÔNIA

O estudo do uso de plantas para vários fins nas comunidades tradicionais está se tornando uma necessidade urgente, especialmente no mundo tropical. Tais comunidades vêm sofrendo crescentes pressões econômicas e culturais da sociedade envolvente, com consequências funestas para as duas culturas tradicionais. O conhecimento acumulado por estas populações, através de séculos de contato estreito com seu meio ambiente, viria enriquecer bastante o pouco que ainda sabemos sobre a utilização da flora tropical (AMOROZO e GÉLY, 1988).

A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos, ao ponto que atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares. Dentro desta perspectiva, esperar-se-ia que o Brasil fosse um país privilegiado, considerando sua extensa e diversificada flora, detendo aproximadamente um terço da flora mundial. Além disso, existe no país um grande número de grupos de pesquisa que tem contribuído significativamente para o desenvolvimento da química de produtos naturais de plantas, a quimiotaxonomia, a farmacologia de produtos naturais e outras áreas relacionadas. No entanto, nosso país não tem uma atuação destacada no mercado mundial de fitoterápicos, ficando inclusive atrás de países menos desenvolvidos tecnologicamente (YUNES et al., 2001).

O uso pouco cuidadoso de plantas medicinais, fora de seu contexto original e sem respaldo acadêmico, tem dado origem a intoxicações, atribuíveis aos efeitos já conhecidos da planta ou ainda ao uso de planta errada, por confusão na identificação das espécies (FERREIRA, 2006). Infelizmente, o estado de arte da maioria dos fitoterápicos fabricados atualmente pela indústria brasileira está fundamentado somente no uso popular das plantas

sem nenhuma comprovação pré-clínica nem clínica, não podendo portanto ser competitivo a nível nacional e muito menos internacional (YUNES et al., 2001). Face ao exposto, é de fundamental importância à realização de estudos detalhados das plantas existentes no Brasil, com o objetivo de identificar sua forma de uso visando à obtenção de patente, o que beneficiaria o país e a população (REZENDE e COCCO, 2002).

No Brasil, vinham sendo realizados inúmeros trabalhos com o objetivo de embasar, cientificamente, a utilização de plantas como recursos terapêuticos. Na década de 80, muitos grupos, na sua quase totalidade concentrados em Instituições de ensino Superior (IES), realizavam projetos de pesquisas nas áreas da botânica, agronomia, química, farmacologia e tecnologia farmacêutica, e seus esforços eram direcionados para a avaliação das potencialidades da nossa flora. O estado brasileiro exerceu uma ação multiplicadora, favorecendo a geração de conhecimentos e a formação de recursos humanos, indispensáveis nas IES, através do Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais, iniciado em 1983, e vinculado à antiga Central de Medicamentos (CEME). A interrupção desse programa, em 1995, exerceu um impacto negativo profundo no desenvolvimento dessas áreas. Destaque-se ainda a deficiência em recursos humanos qualificados para algumas áreas especializadas, como a de desenvolvimento tecnológico e a de ensaios clínicos, que vinham sendo apoiados pelo referido Programa. No entanto, estes estudos estão sendo retomados apesar da inexistência de uma política para o setor, que poderia potencializar esses esforços isolados (SIMÕES e SCHENKEL 2002).

A situação é paradoxal: as plantas medicinais brasileiras são consideradas altamente promissoras, mas são pouco conhecidas, sob qualquer ponto de vista. O que está acontecendo atualmente é que está se consumindo fitoterápicos desenvolvidos na Europa e América do Norte. Além disso, produtos estão sendo consumidos sem que sua eficácia e segurança tenham sido comprovadas (SIMÕES e SCHENKEL 2002). A pesquisa com plantas medicinais pode não só contribuir para o melhor uso destes recursos pela população, mas também trazer à luz o conhecimento de novas e efetivas drogas no combate a diversos males (AMOROZO e GÉLY, 1988).

É, portanto, indispensável continuar o processo de formação de recursos humanos e lutar pelo estabelecimento de programas direcionados para a investigação científica e tecnológica na área, buscando soluções na privilegiada biodiversidade brasileira, através da descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica, ou no desenvolvimento de fitoterápicos genuinamente nacionais (SIMÕES e SCHENKEL 2002).

Sabendo-se o exposto anteriormente, sobre as doenças relacionadas com os radicais livres e com o estresse oxidativo, e sobre a importância de validar as características químicas, biológicas e botânicas das plantas regionais, principalmente as utilizadas pelas populações tradicionais, pode-se inferir, que sendo o primeiro trabalho de atividade antioxidante das plantas utilizadas neste estudo, este trás a base para novas pesquisas com essas espécies.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antioxidante das plantas *Protium subserratum* (Engl.) Engl., *Protium trifoliolatum* Engl., *Piper obliquum* Ruiz & Pavon, *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. e *Bertholetia excelsa* H. & B., frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos e das frações dos espécimes.
- Determinar o EC₅₀ para os extratos e frações dos espécimes.
- Identificar as classes de substâncias presentes nos extratos e frações, a partir de testes específicos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais vegetais foram coletados nos municípios de Porto Velho/RO e de Canutama/AM.

As espécies do gênero *Protium* foram coletadas no Campus José Ribeiro Filho - Universidade Federal de Rondônia (UNIR), que se localiza à margem direita da Rodovia BR 364, Km 9,5, sentido Rio Branco (AC), sob as coordenadas 563°56'30''/W 08°49'45'' e estão depositadas no Herbário Rondoniense (RON).

A *Bertholletia excelsa* foi coletada no município de Canutama/AM, no Km 59 da BR 319, na linha 2, lote 61, está depositada no Herbário Rondoniense (RON) sob o número 903.

A *Piper obliquum* foi coletada na Estação Ecológica Cuniã - ESEC Cuniã, no sítio de amostragem do Programa de Pesquisa em biodiversidade (PPBio/Núcleo Regional RO), e foi depositado no Herbário Rondoniense (RON) sob o número 4696 e uma duplicata enviada ao Instituto Jardim Botânico do Rio de Janeiro a fim de identificação pela especialista da família Piperaceae Dr. Elsie Franklin Guimarães.

A *Eleutherine bulbosa* foi coletada no Campus José Ribeiro Filho - Universidade Federal de Rondônia (UNIR), que se localiza à margem direita da Rodovia BR 364, Km 9,5, sentido Rio Branco (AC), depositada no Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, sob o número 371008.

A Figura 10 mostra o fluxograma do estudo realizado com as espécies do gênero *Protium*, a *Eleutherine bulbosa* e a *Piper obliquum*, com exceção da *Bertholletia excelsa* (DI STASI, 1996).

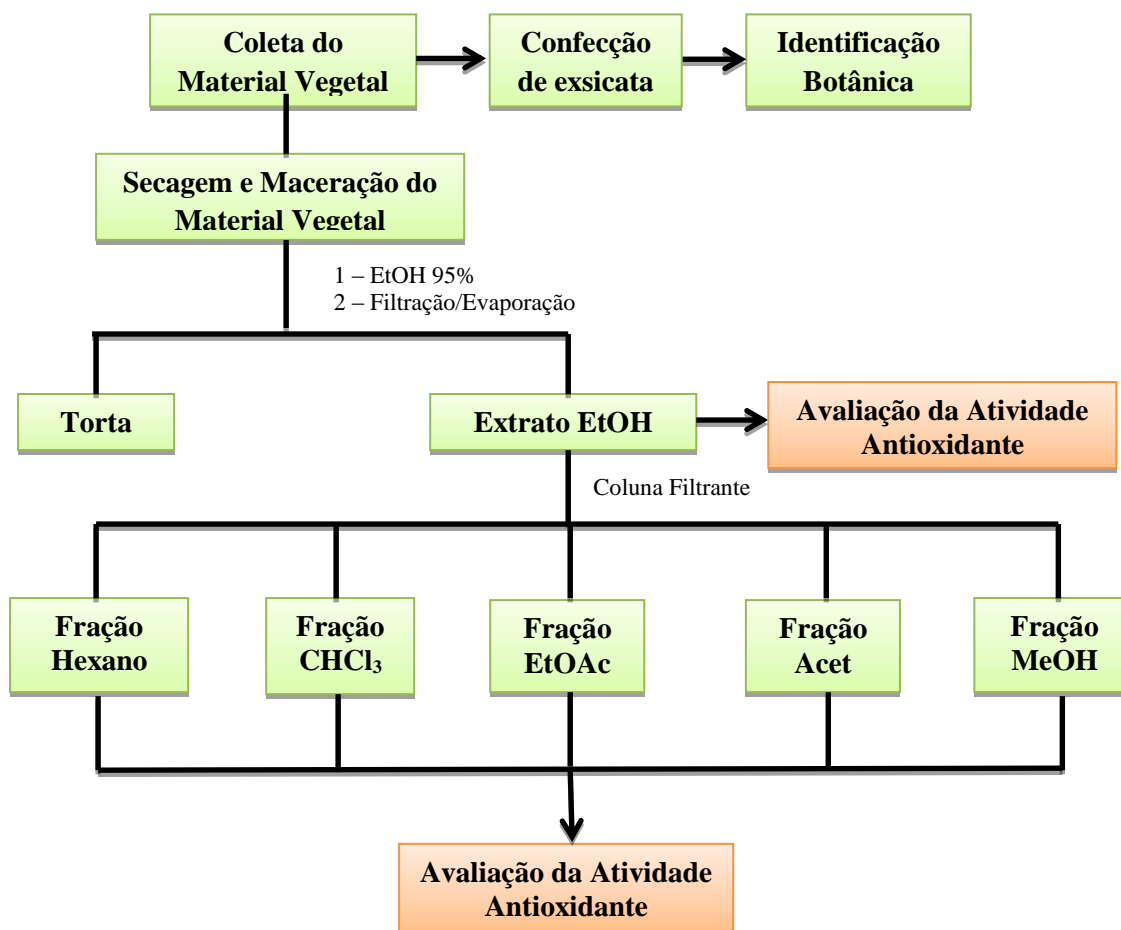


Figura 10: Organograma do estudo fitoquímico.

O *Ginkgo biloba* foi escolhido para ser o controle, por ser um espécime com comprovada ação antioxidante (DROY-LEFAIX, 1997). A solução do *Ginkgo biloba* foi preparada a partir do medicamento GinkoLab 80 mg (Multilab).

3.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO E FRAÇÕES

Para a *Bertholletia excelsa* foram preparados separadamente extratos da casca e do ouriço e para os extratos das demais plantas foram utilizados as folhas e galhos.

Os materiais vegetais foram cortados e pesados, em seguida, foram secos em estufa a 40°C. Os materiais secos foram pesados, obtendo-se a diferença entre as massas (peso úmido – peso seco), e posteriormente foram macerados.

A preparação do extrato etanólico foi por percolação (método de extração em temperatura ambiente) (FALKENBERG et al., 2003), onde o material vegetal seco ficou em contato com álcool etílico 95% por 7 dias. Após esse tempo o material foi filtrado e o

procedimento de extração foi repetido com o material vegetal. O solvente foi evaporado utilizando um evaporador rotatório (FISATOM mod. 802A) e para total secagem do extrato, este foi colocado em banho-maria (BIOPAR) a temperatura aproximada de 50 °C.

Os extratos foram submetidos a coluna cromatográfica em um funil de separação (2000mL), utilizando sílica gel 60 (35-70 mesh) como fase estacionária, método para obtenção das frações. Primeiramente preparou-se uma pastilha do extrato etanólico da planta, macerando-se o extrato com a sílica gel até a total adsorção deste a sílica (Figura 11). A pastilha contendo o extrato etanólico foi vertida sobre a sílica gel que já estava no funil de separação. O fracionamento foi realizado utilizando solventes em gradiente de polaridade, obedecendo a ordem: hexano [Hex] (éter de petróleo no caso da *Bertholletia excelsa*), clorofórmio [CHCl_3], Acetato de etila [EtOAc], acetona [Acet] e Metanol [MeOH] (Figura 11). Posteriormente as frações foram evaporadas utilizando evaporador rotativo até a evaporação total do solvente. As frações adquiridas foram pesadas.

No caso da *B. excelsa* o éter de petróleo foi utilizado ao invés do Hexano, pois em estudos desenvolvidos no LABFITO/UNIR, observou-se uma melhor extração. A avaliação da atividade antioxidante não teve prejuízo por ter sido escolhido um solvente diferente dos demais fracionamentos, sendo os dois solventes equivalentes quanto a polaridade, quando feita a coluna filtrante.



Fonte: Arquivos pessoais

Figura 11: (a) Pastilha prepara com o extrato etanólico e sílica gel; (b) Coluna Filtrante.

3.2 TESTES DE CLASSES DE SUBSTÂNCIAS

Para determinar as principais classes de substâncias presentes nas amostras, foram realizados testes qualitativos. Os testes foram utilizados para identificar as seguintes classes de substâncias: esteróides, terpenos, flavonóides e saponinas

3.2.1 Esteróides e Terpenos (Reação de Lieberman Burchard)

Em um tubo de ensaio uma pequena quantidade do material vegetal foi solubilizado em 3 mL de clorofórmio, essa solução foi filtrada, sendo após adicionado 1 mL de anidrido acético e algumas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Após leve agitação, caso a solução apresente coloração azul seguida de verde permanente, indica a presença de esteróides, e caso a solução apresente uma coloração entre pardo e vermelho, indica a presença de terpenos (SILVA et al., 2010).

3.2.2 Flavonóides (Reação de Shinoda)

Uma pequena quantidade do material vegetal foi diluída em 2 mL de etanol em um tubo de ensaio, logo após foram adicionados 6 pedaços pequenos de magnésio metálico e 2 mL de ácido clorídrico concentrado. Caso a solução apresente uma coloração rósea-vermelha indica a presença de flavonóides (SILVA et al., 2010).

3.2.3 Saponinas

Foi misturada uma pequena quantidade do material vegetal em água destilada em um tubo de ensaio. O tubo foi vigorosamente agitado. A presença de espuma persistente e abundante indica teste positivo para saponinas (FALKENBERG, et al., 2003).

3.3 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PARA ANÁLISE

Para a preparação da solução estoque foram pesados, em uma balança analítica (Shimadzu), aproximadamente 0,1 g dos extratos etanólicos e das frações e posteriormente diluídos em 100 mL de metanol, obtendo-se assim uma solução estoque de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Foram preparadas diluições, em balões volumétricos, nas concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50

$\mu\text{g mL}^{-1}$. Depois de analisadas essas concentrações, foram feitas outras diluição com diversificadas concentrações para a obtenção do EC_{50} .

O controle positivo *Ginkgo biloba* foi preparado utilizando o medicamento GinkoLab 80 mg (Multilab). A droga foi macerada e solubilizada em 100 mL de metanol, obtendo-se assim a solução estoque de concentração $800 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esta solução estoque foi filtrada e a partir desta foram preparadas diluições, nas concentrações de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, e posteriormente em outras concentrações.

A solução estoque de DPPH foi preparada com 0,01 g da substância, solubilizada em metanol, em um balão de 100 mL, perfazendo uma concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ (0,25 mM).

3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AAO)

O espectrofotômetro utilizado para as medidas de absorbância foi o Espectrofotômetro UV/VIS 2450 da Shimadzu (Figura 12a).

O espectrofotômetro (Figura 12a) utiliza como fonte de radiação na região do visível (360-800 nm) uma lâmpada de tungstênio e para a região do ultravioleta (190-360 nm) uma lâmpada de deutério. Possui feixe duplo para a diminuição de desvios experimentais. As cubetas de análises (Figura 12b) são de quartzo de 10 nm de caminho óptico e de volume de 3,5 mL.



Fonte: Arquivos pessoais

Figura 12: (a) Espectrofotômetro UV/VIS (Shimadzu); (b) Cubetas de análise

Para avaliação da atividade antioxidante, o espectrofotômetro foi ajustado no modo *simples*, comprimento de onda em: 600 a 450 nm, com velocidade em rápida e o desvio em 1.0.

Antes da leitura no equipamento de UV/VIS, foi feito o desconto da absorbância, pondo-se nas cubetas 3 mL de metanol e utilizando a função Auto Zero do aparelho. Todas as análises foram realizadas em triplicata, onde foi adicionado na cubeta 2,5 mL da amostra e 1 mL de metanol, sendo essas absorbâncias utilizadas como branco.

Para a leitura das amostras e do *Ginkgo biloba* (controle positivo) com o DPPH (0,25 mM), foi adicionado a cubeta 2,5 mL de cada amostra (extratos/frações) e 1 mL da solução de DPPH. Para que a reação do DPPH com a amostra ocorresse, em temperatura ambiente, a leitura foi feita após 30 minutos. Os valores de absorbância foram medidos a 517 nm. Esse procedimento foi realizado em triplicata para todas as soluções (MENSOR et al., 2001).

Foi adicionado a cubeta 1 mL de DPPH (0,25 mM) juntamente com 2,5 mL de metanol, em seguida foi realizada a leitura na região de 517 nm. Estas absorbâncias foram usadas como controle negativo.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As absorbâncias obtidas foram convertidas em porcentagem de atividade antioxidante (%AAO) através da seguinte fórmula:

$$\%AAO = 100 - \{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100] / Abs_{controle}\}$$

Onde $Abs_{amostra}$, Abs_{branco} e $Abs_{controle}$ representam respectivamente: a absorbância da reação da amostra com o DPPH, a absorbância da amostra com o solvente e a absorbância do DPPH com solvente.

Foi utilizado o programa ORIGIN 6.1 para a confecção dos gráficos, e posteriormente, para o cálculo do EC_{50} utilizou-se as equações de regressão linear.

4 RESULTADOS

4.1 TESTES DE CLASSES DE SUBSTÂNCIAS

Através dos testes qualitativos de classes de substâncias foi possível identificar os principais grupos de substâncias presentes nos extratos e frações. A tabela 1 mostra os resultados obtidos.

Tabela 1: Classes de substâncias dos extratos e frações

	<i>Bertholletia excelsa</i> casca					
	EtOH	EtOAc	Acet			
Flavonóides	+	+	+			
Saponinas	+	+	+			
Terpenos	+	-	-			
Esteróides	-	-	-			
	<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço					
	EtOH	EtOAc	Acet	MeOH		
Flavonóides	-	-	-	-		
Saponinas	-	-	-	+		
Terpenos	+	+	+	-		
Esteróides	-	-	-	-		
	<i>Eleutherine bulbosa</i>					
	EtOH	CHCl ₃	EtOAc	MeOH		
Flavonóides	-	-	-	-		
Saponinas	-	-	-	+		
Terpenos	-	-	-	-		
Esteróides	-	-	-	-		
	<i>Piper obliquum</i>					
	EtOH	Hex	CHCl ₃	EtOAc	Acet	MeOH
Flavonóides	-	-	X	-	-	-
Saponinas	-	-	X	-	-	+
Terpenos	+	+	X	+	+	-
Esteróides	+	-	X	-	-	-

	<i>Protium subserratum</i>					
	EtOH	CHCl ₃	EtOAc	Acet	MeOH	
Flavonóides	+	-	+	+	+	
Saponinas	+	-	+	+	+	
Terpenos	-	+	-	-	-	
Esteróides	-	-	-	-	-	
	<i>Protium trifoliolatum</i>					
	EtOH	CHCl ₃	EtOAc	Acet	MeOH	
Flavonóides	+	-	+	+	+	
Saponinas	-	-	+	+	+	
Terpenos	+	+	+	+	-	
Esteróides	+	-	-	-	-	

(+) Resultado do teste positivo; (-) Resultado do teste negativo; (X) Não analisado por falta de material.

Os flavonóides estão presentes na *Bertholletia excelsa* (somente na casca) e nas espécies do gênero *Protium* (exceto nas frações CHCl₃). As saponinas foram encontradas em todas as espécies estudadas, sendo identificadas em sua maioria nos solventes de maior polaridade. A *Piper obliquum*, a *Protium trifoliolatum* e o ouriço da *Bertholletia excelsa* mostraram terpenos presentes em todos os extratos e fração, com exceção das frações MeOH dessas plantas. Os esteróides se mostraram presentes somente nos extratos da *Protium trifoliolatum* e da *Piper obliquum*.

4.2 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS NA REGIÃO DO UV/VIS

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pela adaptação do método descrito por Mensor et al (2001). Neste trabalho se utilizou a concentração do DPPH de aproximadamente 0,25 mM. Essa modificação no método se deu após várias análises, para padronização da mesma em todos os extratos, obtendo-se melhores resultados.

O DPPH quando consumido muda sua coloração de roxo para amarelo, esse consumo de DPPH é um índice para se estimar a capacidade antioxidante, avaliando o índice de captura de radicais livres no meio (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Nas leituras feitas do DPPH com metanol observou-se uma maior absorbância na faixa de 515 à 520 nm, característica de uma solução alcoólica de DPPH.

Os espectros das amostras analisadas como brancos, apresentaram um decaimento de absorvância com o decréscimo das concentrações analisadas, conforme esperado. Os espectros das amostras analisadas com o DPPH possuem uma maior absorvância na faixa entre 515 e 520 nm em relação aos seus respectivos espectros das análises do branco, isso demonstra que houve a adição do DPPH na amostra, e quanto menor a absorvância na faixa entre 515 e 520 nm, maior a redução de DPPH pela amostra. Esse comportamento é observado no espectro de todas as amostras conforme ilustrado no item apêndice, a Figura 13 ilustra um exemplo deste comportamento.

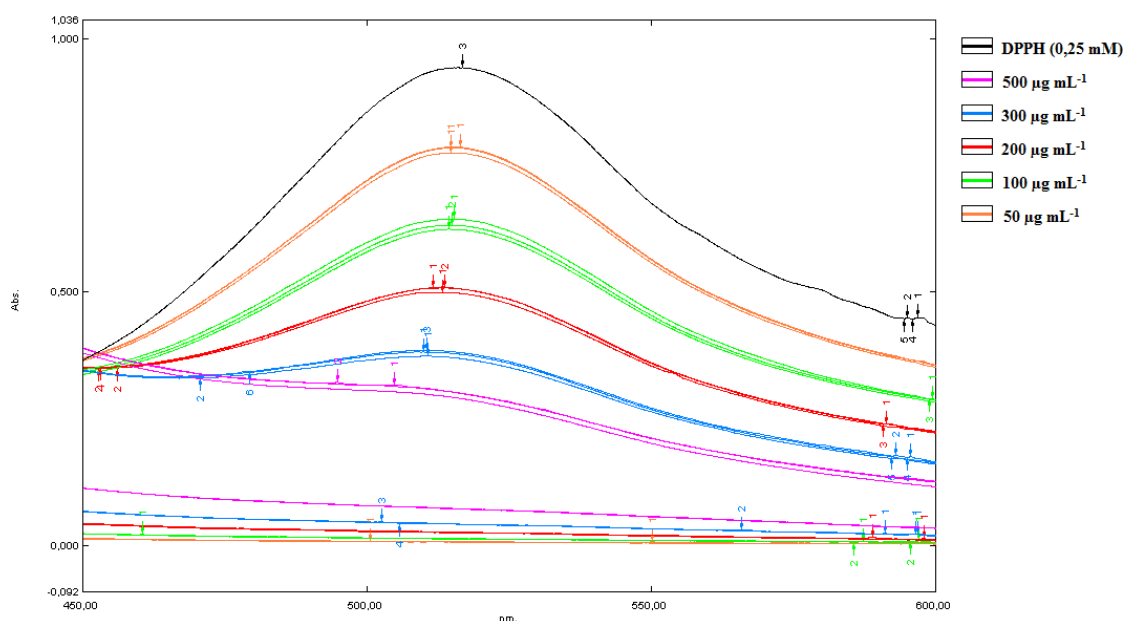


Figura 13: Espectro de absorção na região do UV/VIS para *Eleutherine bulbosa* – fração MeOH

Os espectros obtidos para fração CHCl_3 da *Piper obliquum* (Figura 45), fração CHCl_3 da *Protium subserratum* (Figura 55) e frações CHCl_3 e EtOAc da *Protium trifoliolatum* (Figuras 65 e 67) mostram de absorção nas regiões de 430, 500 e 550 nm características da estrutura molecular das plantas. Todavia a presença destes picos de absorção próprios das plantas, não alterou a análise do EC_{50} observado em 517 nm.

4.3 PORCENTAGENS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PARA AS CONCENTRAÇÕES DE $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$

Como base nas análises para todos os extratos/frações foram definidas concentrações de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$. Baseado nos resultados obtidos, foram realizadas análises com

diferentes concentrações, a fim de obter cinco porcentagens (Tabelas 3-30) diferentes de atividade antioxidante entre 10-90%, para o cálculo do EC₅₀. Para as amostras que apresentaram uma porcentagem acima de 95% de AAO foram feitas análises com menores concentrações. As amostras que obtiveram valores menores de 10%, foram testadas com concentrações maiores. As amostras que se apresentaram entre 10% e 95% tiveram testes com concentrações maiores e menores. Todas essas análises foram realizadas a fim de se obter resultados que apresentaram valores entre 10% a 93%.

A tabela 2 mostra os resultados obtidos, em porcentagem, para as concentrações de 100 µg mL⁻¹ e 50 µg mL⁻¹.

Tabela 2: Porcentagens de atividade antioxidante calculadas para as concentrações de 100 µg mL⁻¹ e 50 µg mL⁻¹ das amostras

Planta	Solvente	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO+DP
<i>Piper obliquum</i>	EtOH	100	93,54±0,10
		50	92,06±0,57
	Hex	100	85,22±0,79
		50	39,13±0,79
	CHCl ₃	100	37,71±0,68
		50	16,39±0,99
	EtOAc	100	91,90±0,21
		50	89,87±0,08
	Acet	100	92,98±1,26
		50	80,79±1,71
	MeOH	100	92,14±0,25
		50	64,12±1,30
<i>Protium subserratum</i>	EtOH	100	94,37±0,20
		50	93,27±0,28
	CHCl ₃	100	16,35±2,36
		50	8,16±0,66
	EtOAc	100	93,87±0,14
		50	93,44±0,20
	Acet	100	91,93±0,37
		50	91,25±1,02
	MeOH	100	91,88±0,09
		50	91,12±0,30
<i>Protium trifoliolatum</i>	EtOH	100	94,77±0,22
		50	94,37±0,08
	CHCl ₃	100	12,68±0,41

		50	7,03±0,95
	EtOAc	100	85,95±0,85
		50	53,68±1,28
	Acet	100	93,23±0,00
		50	93,09±0,09
	MeOH	100	94,35±0,39
		50	94,51±0,14
<i>Eleutherine bulbosa</i>	EtOH	100	63,10±0,62
		50	39,73±1,73
	CHCl ₃	100	27,91±0,56
		50	19,35±1,61
	EtOAc	100	47,00±0,97
		50	31,45±1,23
	MeOH	100	35,05±1,11
		50	18,78±0,68
<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço	EtOH	100	26,78±0,34
		50	24,65±0,62
	EtOAc	100	29,00±0,21
		50	17,10±0,05
	Acet	100	43,93±1,04
		50	24,91±0,68
	MeOH	100	11,01±0,20
		50	8,26±2,50
<i>Bertholletia excelsa</i> casca	EtOH	100	94,61±0,97
		50	93,95±0,77
	EtOAc	100	95,37±0,12
		50	93,92±0,65
	Acet	100	93,42±1,15
		50	93,17±0,21
<i>Ginkgo biloba</i>	-	100	94,70±0,13
		50	77,68±0,64

%AAO – Porcentagem de atividade antioxidante; DP – Desvio Padrão

A *Eleutherine bulbosa* e o ouriço da *Bertholletia excelsa* apresentaram valores de atividade antioxidante menores que o *Ginkgo biloba*, entretanto ressalta-se que em especial para a concentração de 50 µg.mL⁻¹ as outras plantas apresentaram porcentagem de atividade antioxidante maior do que o padrão, ou seja, resultados satisfatórios.

4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO EC₅₀

Apesar de não ser possível a utilização do extrato padronizado *Ginkgo biloba*, o medicamento demonstrou um resultado ($EC_{50} 32,04 \pm 0,17 \mu\text{g.mL}^{-1}$) próximo ao apresentado no trabalho de Mensor et al. (2001), que encontrou um EC_{50} de $40,72 \pm 0,19 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para o extrato padronizado de *Ginkgo biloba* (EGb 761).

A *Piper obliquum* apresentou, em geral valores de inibição do oxidante DPPH melhores do que o padrão *Ginkgo biloba*. Os resultados mais expressivos foram obtidos para extrato EtOH ($EC_{50} 26,23 \pm 0,28 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e frações EtOAc ($EC_{50} 17,91 \pm 0,16 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e Acet ($EC_{50} 31,21 \pm 0,38 \mu\text{g.mL}^{-1}$). É interessante ressaltar que essas amostras apresentaram um potencial antioxidante maior do que o apresentado para o padrão *Ginkgo biloba*. As frações Hex e MeOH também demonstraram um bom potencial antioxidante com um EC_{50} $55,18 \pm 0,99 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $38,86 \pm 0,08 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente, se comparado ao *G. biloba*. A fração CHCl_3 ($EC_{50} 135,98 \pm 1,11 \mu\text{g.mL}^{-1}$) demonstrando baixa eficiência antioxidante em relação às demais frações da *Piper obliquum* (Figura 14).

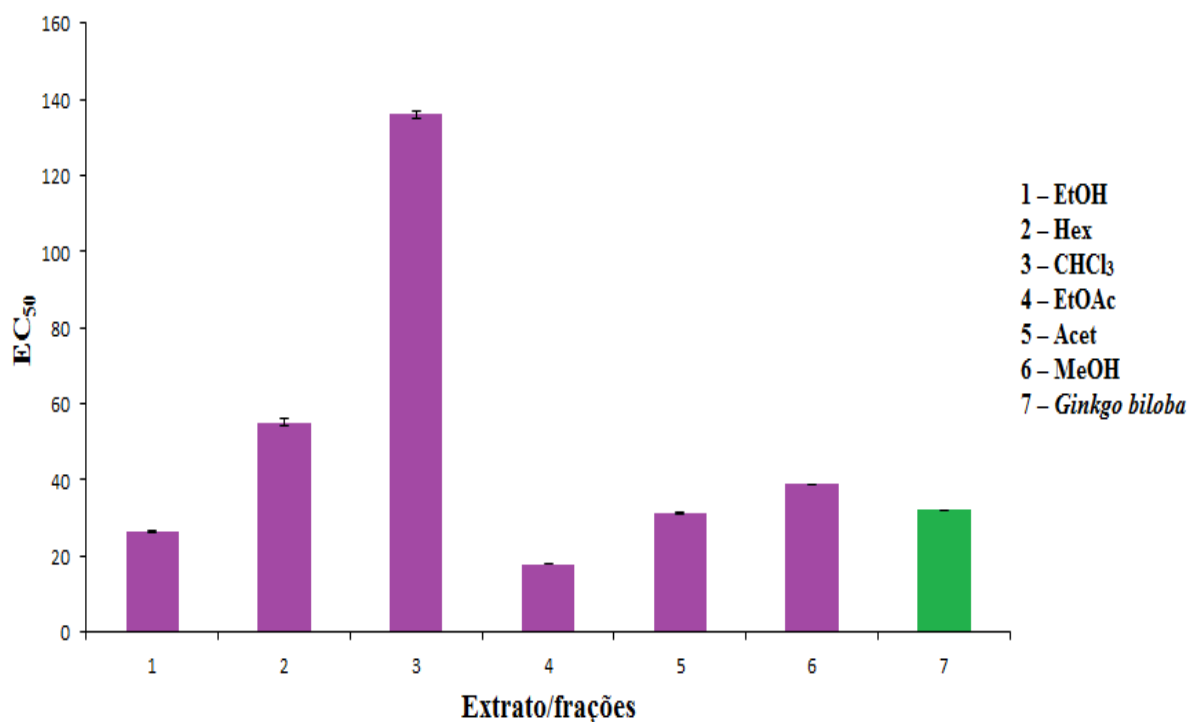


Figura 14: EC₅₀ do extrato/frações *Piper obliquum*.

A Figura 15 apresenta a comparação dos valores de EC_{50} para plantas do gênero *Protium*, onde foi observado que as frações demonstraram maior atividade em relação ao padrão *Ginkgo biloba*, no entanto, as frações $CHCl_3$ mostraram baixa expressividade ($EC_{50}=366,03 \pm 7,07 \mu\text{g.mL}^{-1}$ *P. subserratum*, $574,62 \pm 2,68 \mu\text{g.mL}^{-1}$ *P. trifoliolatum*). Na *P. subserratum*, o extrato etanólico ($EC_{50} 8,96 \pm 0,11 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e as frações acetona ($EC_{50} 14,28 \pm 0,21 \mu\text{g.mL}^{-1}$), EtOAc ($EC_{50} 6,42 \pm 0,20 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e MeOH ($EC_{50} 20,35 \pm 0,22 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram excelentes resultados, com valores de EC_{50} menores do que o padrão *G. biloba*.

O extrato etanólico ($12,21 \pm 0,15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e as frações acetona ($9,63 \pm 0,09 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e MeOH ($18,39 \pm 0,22 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram os melhores resultados antioxidante da *Protium trifoliolatum*, sendo os seus EC_{50} melhores em relação ao padrão *Ginkgo biloba*. O extrato EtOAc também demonstrou um resultado antioxidante satisfatório, sendo seu EC_{50} $41,66 \pm 0,65 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Não foram obtidos frações hexânica, das espécies de *Protium*, suficiente para análise da atividade antioxidante.

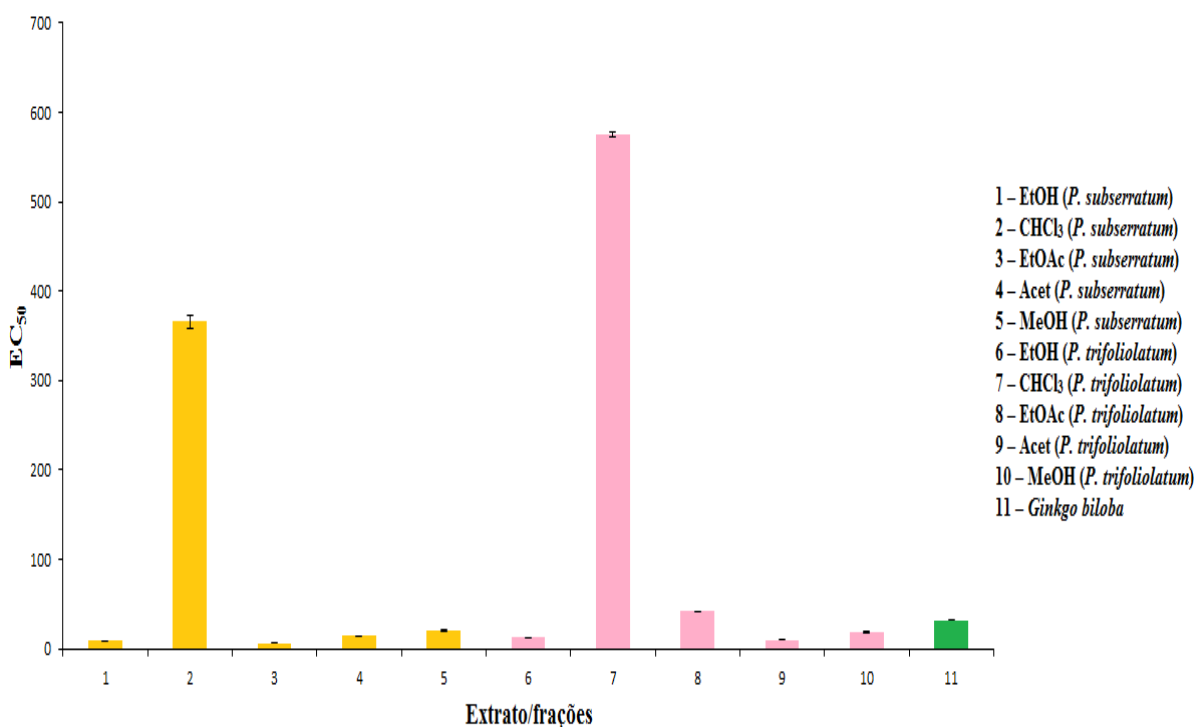


Figura 15: EC_{50} dos extratos/frações das espécies de *Protium*.

A *Eleutherine bulbosa* (Figura 16) apresentou todos seus valores de inibição do oxidante DPPH maiores do que o padrão *Ginkgo biloba*. O melhor resultado encontrado foi obtido do extrato etanólico ($EC_{50} 77,17 \pm 2,33 \mu\text{g.mL}^{-1}$). As frações clorofórmio ($EC_{50} 286,88 \pm 5,65 \mu\text{g.mL}^{-1}$), EtOAc ($EC_{50} 118,16 \pm 2,40 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e MeOH ($EC_{50} 237,59 \pm 2,47 \mu\text{g.mL}^{-1}$) demonstraram baixa eficiência antioxidante em relação ao padrão *Ginkgo biloba*. Não foi obtido frações Hex e Acet suficientes para análise da atividade antioxidante.

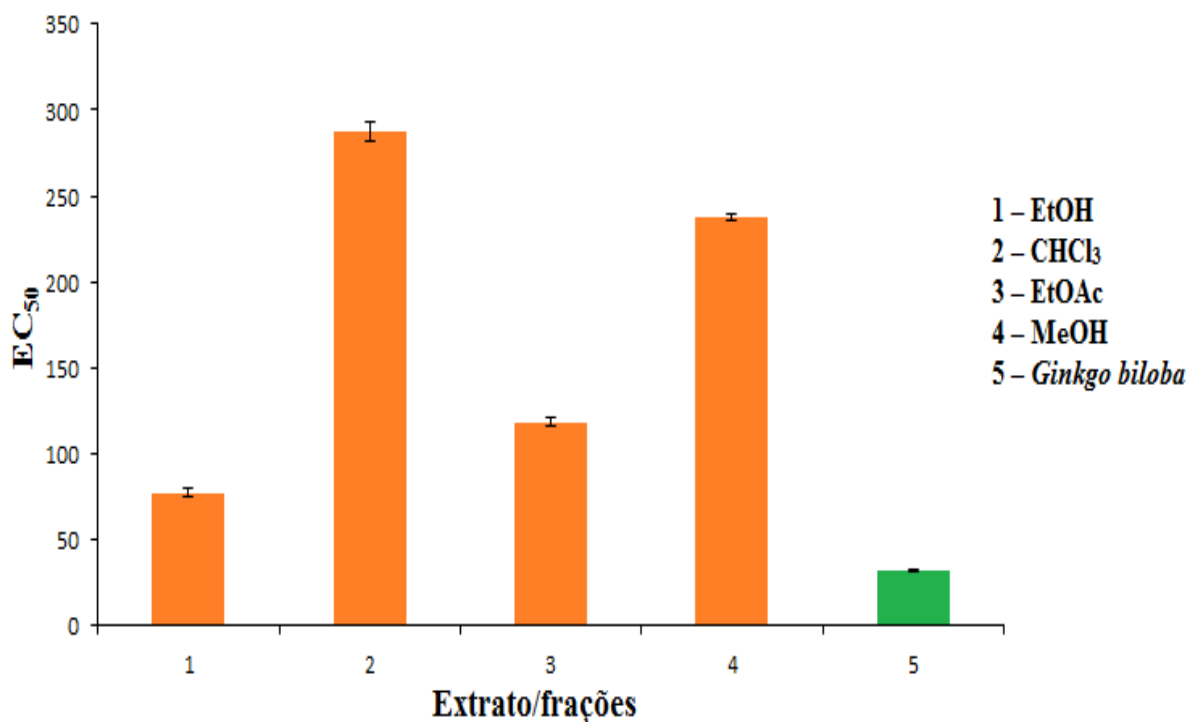


Figura 16: EC_{50} do extrato/frações da *Eleutherine bulbosa*.

O extrato etanólico e as frações da casca da *Bertholletia excelsa* (Figura 17) apresentaram os melhores resultados encontrados dentre todas as outras plantas. Todas as amostras de casca analisadas dessa planta se mostram melhores do que o padrão DPPH. O extrato etanólico (EC_{50} $6,77 \pm 0,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e as frações acetato de tila (EC_{50} $4,58 \pm 0,17 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e acetona (EC_{50} $4,85 \pm 0,14 \mu\text{g.mL}^{-1}$) tiveram resultados para o EC_{50} próximos. Não foi obtido frações CHCl_3 e MeOH para análise da atividade antioxidante. A fração éter de petróleo não apresentou atividade antioxidante.

As amostras do ouriço da *Bertholletia excelsa* (Figura 17) não apresentaram resultados expressivos, com EC_{50} maiores do que o padrão *G.biloba*. Os melhores resultados foram encontrados no extrato etanólico (EC_{50} $166,21 \pm 12,51 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e para as frações EtOAc (EC_{50} $206,11 \pm 2,80 \mu\text{g.mL}^{-1}$), acetona (EC_{50} $132,31 \pm 0,32 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e MeOH (EC_{50} $391,46 \pm 4,15 \mu\text{g.mL}^{-1}$). A fração éter de petróleo não foi obtida em quantidade suficiente para análise da atividade antioxidante. A fração CHCl_3 não apresentou atividade antioxidante.

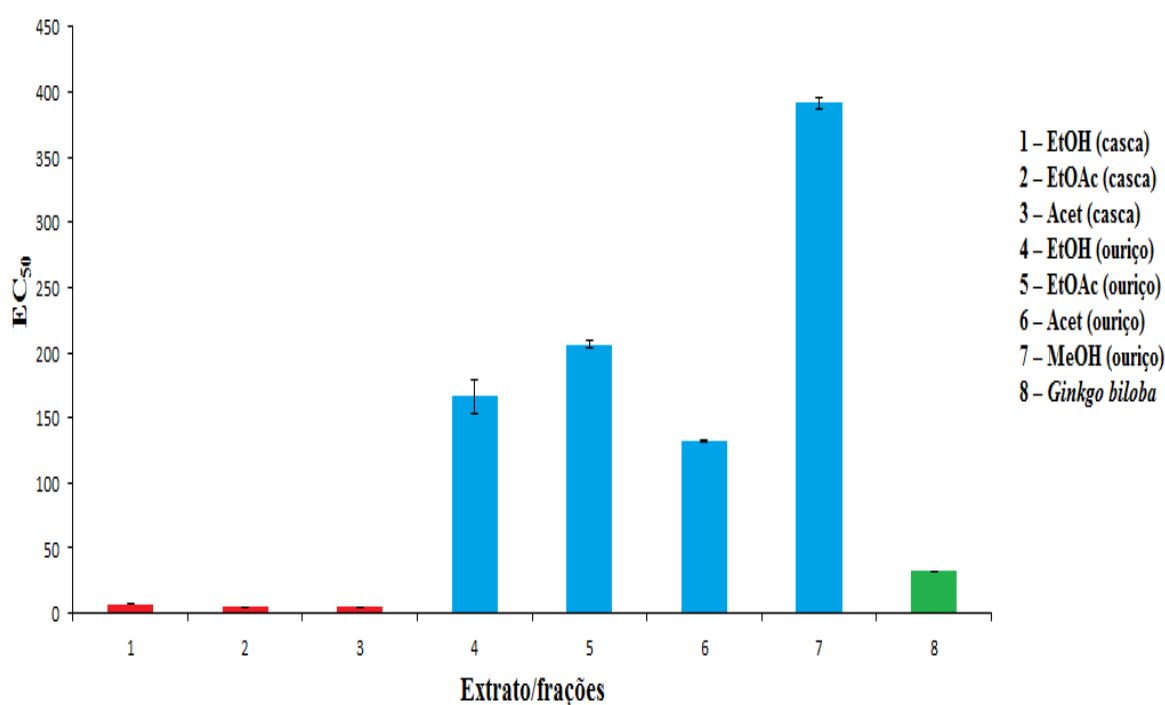


Figura 17: EC_{50} dos extratos/frações da *Bertholletia excelsa*.

5 DISCUSSÃO

Rocha et al. (2010) relaciona a atividade antioxidante com a presença de flavonóides em uma planta. Segundo Machado et al. (2008), os flavonóides são doadores de elétrons, o que faz com que sejam neutralizadores de radicais livres envolvidos no processo oxidativo.

Anjo (2004) destaca que terpenos são encontrados em alimentos verdes, na soja e nos grãos, e que esses compostos apresentam atividade antioxidante e interações com radicais livres devido à divisão de sua cadeia carbônica longa em membranas lipídicas.

Os esteróides possuem atividades terapêuticas importantes como cardiotônico, anabolizante, anticoncepcional e agentes anti-inflamatórios (MENDES et al., 2002).

As saponinas possuem propriedades de redução da tensão superficial da água e ação de detergentes e emulsificantes (SCHENKEL et al, 2003).

As duas espécies de *Protium* analisadas mostraram resultados parecidos, onde a *P. subserratum* (extrato EtOH e frações EtOAc, Acet, MeOH) e a *P. trifoliolatum* (extrato EtOH e frações Acet e MeOH) tiveram resultados de atividade antioxidante acima de 90% para as concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 2) e mostraram resultados melhores de EC_{50} (Tabelas 20, 22, 23, 24, 25, 28 e 29) do que o *Ginkgo biloba*. A fração EtOAc da *P. trifoliolatum* mostrou valores entre 86%-53% para as concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 2) e obteve um valor de EC_{50} um pouco maior do que o *Ginkgo biloba* (Tabela 27), mas mostrando ainda assim uma expressiva atividade antioxidante. As frações CHCl_3 das duas espécies não apresentaram resultados expressivos para os valores de EC_{50} (Tabelas 21 e 26).

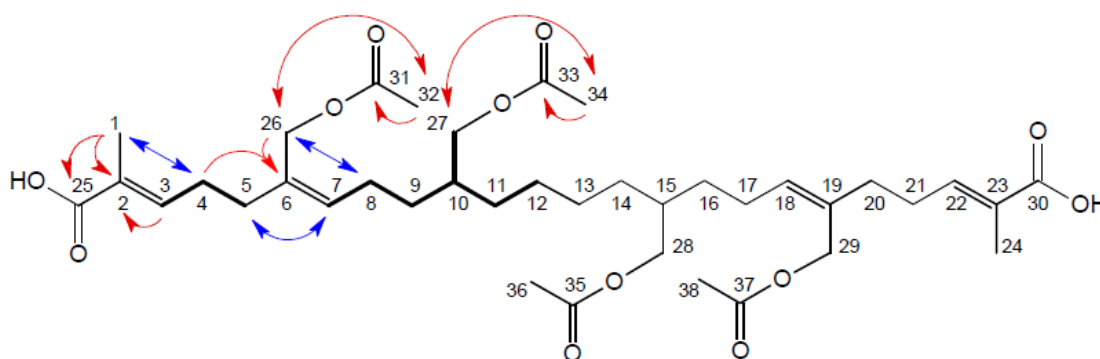
Ressalta-se que a literatura não relata atividade antioxidante para as *Protium subserratum* e *Protium trifoliolatum*, entretanto Ribeiro et al. (2011) relata a atividade antioxidante de espécies do gênero *Protium* (*P. apiculatum*, *P. gallosum*, *P. pilosissimum*, *P. nitidifolium* e *P. decandrum*) pelo método do DPPH e do β -Caroteno/Ácido Linoléico. Os valores encontrados pelo método do DPPH foram bastante efetivos, melhores que o do padrão (Rutina) que foi utilizado. Os valores de atividade antioxidante encontrados no método do β -Caroteno/Ácido Linoléico foram poucos efetivos.

Padilla et al. (2008), comparou valores antioxidantes encontrados em legumes e frutas comuns com a ação antioxidante analisada para a *Protium neglectum*, encontrando valores melhores na espécie de *Protium*, mas que em comparação com valores obtidos para o Butil-

hidroxianisol (BHA) (SANCHEZ-MORENO et al., 1999) a espécie demonstrou baixa atividade antioxidante.

No presente trabalho, o teste de classe de substâncias (Tabela 1) mostrou que ambas as espécies de *Protium* possuem flavonoides, saponinas e terpenos, e que a *P. trifoliolatum* apresenta esteroides em seu extrato EtOH. A atividade antioxidante mostrada pelo extrato EtOH e frações, com exceção das frações CHCl₃, das espécies de *Protium* podem estar ligadas a presença de flavonóides e terpenos em sua composição, as frações CHCl₃ dessas espécies apresentaram terpenos, mas não tiveram atividade antioxidante expressiva, assim é possível inferir que os terpenos presentes nestas frações não são terpenos com cadeia cíclica ou que não são doadores de elétrons.

A literatura relata estudos com plantas do gênero *Protium*, em sua maioria demonstram a presença de terpenos, triterpenos e sesquiterpenos (MACHADO et al., 2003; SILVA et al., 2009; SILVA, 2012), corroborando os resultados encontrados no presente trabalho pra as plantas desse gênero. Lokvam e Fine (2012) isolaram um novo triterpeno da *Protium subserratum*, o 25,30-dicarboxi-26,27,28,29-tetraacetoxi-10,11,14,15-tetrahydroqualene (Figura 18).



Fonte: Lokvam e Fine (2012)

Figura 18: Estrutura do 25,30-dicarboxi-26,27,28,29-tetraacetoxi-10,11,14,15-tetrahydroqualene.

Silva (2012) estudou o xilema secundário da *Protium altsonni* e identificou a presença majoritária dos sesquiterpenos: α -calacoreno e epi- α -muurolol. Machado et al. (2003) realizou um estudo sazonal das folhas e galhos da *Protium spruceanum* (Benth.) Engl., encontrando monoterpenos e sesquiterpenos nas amostras coletadas durante 12 meses, com grande variação dos monoterpenos durante esse ano. Silva et al. (2009), analisou o extrato hexânico de óleo-resinas das *Protium apiculatum*, *Protium grandifolium*, *Protium hebetatum*, *Protium heptaphyllum*, *Protium paniculatum*, *Protium strumosum* e *Protium tenuifolium*,

encontrando os seguintes grupos de substâncias: monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, hidrocarbonetos e fenil-propanóides.

Siani et al. (1999) constatou a ação anti-inflamatória e antitumoral do óleo essencial das folhas das *Protium grandifolium*, *Protium llewelynii* e *Protium strumosum*. Liu et al. (2007) relaciona patogêneses de muitas doenças, inclusive o câncer, com o estresse oxidativo causa pelas espécies reativas do oxigênio (EROs) no organismo humano.

Aragão (2004) comprovou o efeito antinocepcivo, antiedematogênico, anti-inflamatório, sedativo e ansiolítico de uma mistura isomérica de *alfa* e *beta*-amirina isolada da *Protium heptaphyllum* Aubl. March.

A *Piper obliquum* apresentou valores acima de 90% de atividade antioxidante para a concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o extrato EtOH e para as frações EtOAc, Acet e MeOH, para a concentração de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ os valores da %AAO variaram entre 93%-64% (Tabela 2). O EC₅₀ do extrato EtOH e das frações EtOAc e Acet apresentaram valores melhores que o padrão *Ginkgo biloba* (Tabelas 14, 17 e 18). A fração MeOH demonstrou um resultado de EC₅₀ próximo do *Ginkgo biloba*, apresentando assim uma expressiva atividade antioxidante (Tabela 19). A fração Hex da *Piper obliquum* mostrou, entre as concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 86%-39% de atividade antioxidante e seu valor de EC₅₀ um pouco acima do *Ginkgo biloba*, mesmo assim podendo ser considerado um resultado expressivo (Tabelas 2 e 15). A fração CHCl₃ da *Piper obliquum* apresentou baixa eficiência de atividade antioxidante em relação ao extrato EtOH, as demais frações e quando comparados com o *Ginkgo biloba* (Tabela 16).

No presente trabalho foi realizada a avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial da *Piper obliquum*, no entanto o óleo essencial da espécie apresentou resultado negativo para esta atividade. A literatura não relata atividade antioxidante para componentes fixos da espécie *Piper obliquum*.

Em estudo realizado por Guerrini et al. (2009), onde foram analisadas duas espécies de *Piper* (*P. aduncum* e *P. obliquum*), caracterizou o óleo essencial das folhas dessas duas espécies de *Piper*, tendo encontrado majoritariamente terpenos de cadeia aberta. Neste mesmo estudo Guerrini et al. (2009) mostrou que o óleo essencial não teve atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH.

Em estudo realizado em diversas plantas, incluindo *Piper glandulosissimum*, *Piper krukoffi* e *Piper putumayoense*, Lizcano et al. (2010) concluiu que galhos e folhas dessas espécies apresentaram atividade antioxidante melhores que atividade antioxidante encontradas

em diversas frutas (kiwi, maçã, damasco, pêssego e morango) e vegetais (cebola, repolho roxo, espinafre, alface e tomate).

O radical livre DPPH foi utilizado por Arambewela et al. (2006) para testar a atividade antioxidante dos extratos aquoso, etanólico e do óleo essencial da *Piper betle*, usando o BHT como antioxidante padrão. O extrato etanólico mostrou atividade melhor do que o padrão BHT e o extrato aquoso e óleo essencial obtiveram resultados significantes, próximos ao padrão.

Choudhary e Kale (2002) induziram estresse oxidativo nas membranas microssomais de fígado de ratos, e depois administraram extrato das folhas da *Piper betle*, mostrando assim uma diminuição no dano oxidativo provocado pelo estresse oxidativo.

O presente trabalho mostrou que os terpenos estão presentes no extrato EtOH e frações Hex, EtOAc e Acet da *Piper obliquum*. O extrato EtOH foi o único dessa plantas que apresentou esteroides e a fração MeOH só apresentou saponinas (Tabela 1). A satisfatória atividade antioxidante apresentada pelo extrato EtOH e frações Hex, EtOAc e Acet podem estar relacionadas com os terpenos presentes nessa plantas. A atividade antioxidante satisfatória da fração MeOH não pode ser explicada com o teste de classe de substâncias feito no presente trabalho, pois esta fração só apresentou a presença de saponinas, no entanto por ser um teste qualitativo, pode ter ocorrido interferência de outras substâncias presentes na planta mascarando os resultados para esta fração. Não foi possível a realização do teste de classe de substâncias para a fração CHCl₃ da espécie *Piper obliquum* devido a falta de material da amostra.

Lizcano et al. (2010) encontrou quantidades significativas de fenóis e flavonóides nas folhas e galhos das *Piper glandulosissimum*, *Piper krukoffi* e *Piper putumayoense*. Valdivia et al. (2008) demonstrou os princípios bioquímicos que explicam a atividade anti-inflamatória presente na *Piper obliquum*, além de isolar dois novos alquil-fenois e uma nova cromanona, sendo que os dois alquil-fenois possuem atividade antibacteriana.

Os valores de porcentagem da atividade antioxidante para a *Eleutherine bulbosa* nas concentrações de 100 µg mL⁻¹ e 50 µg mL⁻¹ variaram de 64%-18%, seu melhor valor de EC₅₀ foi obtido pelo extrato etanólico, tendo as demais frações (CHCl₃, EtOAc e MeOH) valores muito altos em comparação ao padrão *Ginkgo biloba* (Tabelas 2, 10, 11, 12 e 13), o que mostra que a espécie não obteve um bom resultado antioxidante frente ao radical DPPH.

Ernawati e Nurliani (2012) mostraram o caráter positivo de atividade antioxidante que o extrato etanólico da *Eleutherine americana* Merr. possui em estresse oxidativo causada pela fumaça de cigarro em testículos de ratos.

Malheiros (2008) obteve resultados positivos para naftoquinas, antraquinonas, esteróides e triterpenos no teste de classe de substâncias realizado no extrato EtOH e fração Hex e CHCl₃ da espécie *Eleutherine plicata* Herb. Foi realizado teste antimicrobiano no extrato e frações e o resultado mostrou que a fração CHCl₃ foi a mais ativa, a partir dessa fração foram isolados os compostos isoeleutherol e isoeleuterina. O extrato EtOH e os compostos isolados foram submetidos a avaliação da atividade antioxidante e comparando os resultados com o padrão BHT utilizado, demonstraram baixa atividade antioxidante.

No teste de classes de substâncias (Tabela 1) da *Eleutherine bulbosa*, no presente trabalho, somente a fração MeOH obteve resultado positivo para saponinas, o extrato EtOH e as frações CHCl₃ e EtOAc não tiveram resultados positivos em nenhum dos testes de classes de substâncias realizados. Não há relatos na literatura de saponinas estarem relacionadas com a atividade antioxidante.

A partir do extrato diclorometano das partes subterrâneas da *Eleutherine bulbosa*, Alves et al. (2003) isolou um novo composto, a naftoquinona (eleutherinone) e mais 3 compostos já conhecidos (eleutherinol, iso-eleutherinol e eleutherol). Esses compostos foram submetidos à avaliação antifúngica e o único composto que não apresentou atividade antifúngica foi o eleutherol.

Gallo et al. (2010) isolou policetídeos da *Eleutherine bulbosa* : (R)-4-hidroxi eleutherin, eleuthone, eleutherinol-8-O-β-D-glucopiranosídeo, penta acetil eutherinol-8-O-β-D-glucoside, isoeleuthoside C.

Em estudo do extrato EtOH dos rizomas da *Eleutherine bulbosa*, Ha et al. (2013) isolou 15 substâncias desse extrato, sendo um deles inédito (2S)dihidro-eleutherinol-8-O-β-D-glucopiranosídeo e 14 compostos já isolados dessa espécie. O extrato do rizoma, assim como o composto novo isolado e os compostos identificados como (-)-hongconin, eleutherin e iso-eleutherin, mostraram potente atividade anti-inflamatória, inibindo a ação do Lipopolissacarídeo.

Upadhyay et al. (2013) analisou o extrato metanólico de *Eleutherine indica* L., onde a espécie mostrou alto poder de cicatrização e estimula aumento da produção de colágeno no local da ferida. O autor afirma que o estudo confirmou o conhecimento tradicional da Índia, onde a planta é utilizada para a cicatrização de feridas.

As análises da *Bertholletia excelsa* foram realizadas em extratos e frações da casca e do ouriço, separadamente. O extrato EtOH e as frações EtOAc e Acet da casca da espécie apresentaram valores de porcentagem da atividade antioxidante para as concentrações de 100

$\mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ maiores de 93% e o EC_{50} dessas amostras foram melhores do que o encontrado para o padrão DPPH (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Em contrapartida os resultados encontrados para o extrato EtOH e frações EtOAc, Acet e MeOH do ouriço da espécie se mostraram insatisfatórios. Para as concentrações de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ os valores de porcentagem de atividade antioxidante, dessas amostras, ficaram entre 44%-8%, e os valores de EC_{50} foram piores do que o padrão (Tabelas 2, 6, 7, 8 e 9).

Há alguns estudos na literatura que avaliam a atividade antioxidante da amêndoa da *Bertholletia excelsa* (JOHN e SHAHIDI, 2010; BURATTO et al., 2011; PIRES et al., 2011), no entanto a atividade antioxidante da casca e do ouriço não foram encontrados na literatura, sendo este o primeiro trabalho para a casca e ouriço da *Bertholletia excelsa*.

Buratto et al. (2011) analisou o extrato EtOH das amêndoas da *Bertholletia excelsa*, obtendo um resultado superior ao padrão BHT utilizado. Neste mesmo estudo foi avaliada a atividade anti-bactericida, onde o extrato não demonstrou atividade anti-bactericida ou bactericida.

Pires et al. (2011) relata que as amêndoas da *Bertholletia excelsa*, possuem alto teor de selênio e elevadas quantidades de compostos fenólicos, sendo testadas para a atividade antioxidante, apresentando resultados expressivos, o que corrobora com os resultados dessa pesquisa.

John e Shahidi, (2010) analisaram a amêndoa inteira, a pele morena que envolve a castanha e o núcleo da castanha da *Bertholletia excelsa*. A pele morena se mostrou com maior concentrações de compostos fenólicos e também apresentou maior atividade antioxidante em relação a amêndoa inteira e o núcleo da castanha.

No presente trabalho, o teste de classe de substâncias para a casca da *Bertholletia excelsa* demonstrou a presença de flavonóides e saponinas para o extrato EtOH e frações EtOAc e Acet e positivo para terpenos no extrato EtOH. O ouriço da espécie apresentou a presença de terpenos no extrato EtOH e frações EtOAc e Acet e presença de saponinas na fração MeOH (Tabela 1). O ótimo desempenho antioxidante da casca da *Bertholletia excelsa* pode ser explicado pelos flavonóides presentes na sua composição, como foi evidenciado no teste de classe de substâncias.

Em análise fitoquímica, Campos et al. (2011) identificaram ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis e taninos, saponinas e depsídios e depsidonas do extrato hidro-alcoólico da casca de *Bertholletia excelsa*. Esse mesmo extrato demonstrou uma possível atividade

antimicrobiana, dentre os microrganismos testados o mais susceptível ao extrato foi *Klebsiella pneumoniae*.

Mensor et al (2001) analisou atividade antioxidante de 15 plantas coletadas no Brasil, algumas foram usadas partes diferentes da mesma planta, pela metodologia do DPPH, usando como padrões o extrato padronizado do *Ginkgo biloba* e o composto puro da Rutina, obtendo para algumas amostras resultados melhores do que o apresentado pelos padrões, sendo o EC₅₀ encontrado para a Rutina de 14,16±0,20 µg.mL⁻¹ e para o *Ginkgo biloba* 40,72±0,19 µg.mL⁻¹. O extrato EtOH das folhas da *Anadenanthera peregrina* e das folhas da *Pseudopiptadenia contorta* mostraram-se melhores antioxidantes do que o padrão Rutina, e outras 6 plantas se obtiveram melhores resultados do que o padrão *Ginkgo biloba*. Os resultados obtidos foram atribuídos aos metabólitos secundários presente nas plantas.

Zuque et al. (2004) obteve resultados satisfatório da *Couepia grandiflora* frente ao Radical livre DPPH, usando como padrão a Rutina e BHT (butil-hidróxi-tolueno). Valores de 5,65 µg.mL⁻¹ e de 3,154 µg.mL⁻¹ foram obtidos para os extrato Hex e EtOH das folhas, respectivamente.

Reddy et al. (2012), realizou a análise do extrato MeOH e aquoso de 40 plantas coletadas na Índia, o EC₅₀ foi calculado para as amostras que mostraram maiores capacidade antioxidante frente ao radical livre DPPH, usando o ácido gálico como padrão de referência. As plantas que mostram os resultados antioxidantes mais satisfatórios de EC₅₀ foram: *Emblica officinalis* (6,47 µg.mL⁻¹), *Tamarindus indica* (6,85 µg.mL⁻¹) e *Ficus glomerata* (8,03 µg.mL⁻¹).

O estudo antioxidante de extratos vegetais, utilizando o método do radical livre DPPH, provou ser eficaz para a seleção das plantas que podem ter um potencial antioxidante de interesse farmacológico (MENSOR et al., 2001).

Dentre as plantas analisadas, os melhores resultados foram do extrato EtOH e frações EtOAc e Acet da casca da *Bertholletia excelsa*, do extrato EtOH e frações EtOAc, Acet, MeOH da *Protium subserratum*, o extrato EtOH e frações Acet e MeOH da *Protium trifoliolatum* e do extrato EtOH e frações EtOAc e Acet da *Piper obliquum*.

A continuidade dos estudos é essencial para o detalhamento sobre a composição química, isolamento de compostos e substâncias e testes biológicos provando a eficácia como agentes biológicos.

CONCLUSÃO

A casca da *Bertholletia excelsa* mostrou maior valor antioxidante frente ao radical DPPH, sendo que todas as suas amostras analisadas mostram um potencial antioxidante melhor do que o apresentado pelo *Ginkgo biloba*. O ouriço da *Bertholletia excelsa* não apresentou resultados satisfatório. Apresentando valores de EC₅₀ maiores que 130 µg.mL⁻¹. A *Eleutherine bulbosa* não apresentou nenhum resultado do EC₅₀ melhor do que o padrão *Ginkgo biloba*. Tendo seu melhor resultado com o extrato etanólico. A *Piper obliquum* apresentou atividade antioxidante expressiva para todas as amostras analisadas (exceto a fração CHCl₃), o extrato etanólico e as outras frações apresentaram resultados semelhantes ao EC₅₀ do *Ginkgo biloba*. As plantas do gênero *Protium* apresentaram baixíssima atividade antioxidante para a fração CHCl₃ e as demais frações apresentaram resultados melhores ou semelhantes ao padrão *Ginkgo biloba*. De maneira geral as plantas provenientes da amazônia ocidental apresentaram potencial antioxidante expressivo, enfatizando a importância do investimento na pesquisa destas plantas amazônicas.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A.E.; ROOZEN, J.P. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. **Food Chemistry**, v. 64, p. 323-329, 1999.

ABDALLA, D.S.P.; Estresse oxidativo e Alimentação. In: Tirapegui J. Nutrição – Fundamentos e Aspectos Atuais. 2ªEd – São Paulo, **Atheneu**, p. 181-197, 2006.

ADEGOKE, G.O.; VIJAY, K.M.; GOPALA, K.A.G.; VARADARAJ, M.C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B.R.; Antioxidants and lipid oxidation in foods : A critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n.4, p. 283-298, 1998.

ALVES, T.M.A.; KLOOS, H.; ZANI, C.L.; Eleutherinone, a Novel Fungitoxic Naphthoquinone from Eleutherine bulbosa (Iridaceae). **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 709-712, 2003.

AMOROZO, M.C.M.; GÉLY, A.; Uso de Plantas Medicinais por Caboclos do Baixo Amazonas. Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 4, n. 1, p. 47-131, 1988.

ANJO, D.F.C.; Alimentos Funcionais em Angiologia e Cirurgia Vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ARAGÃO, G.F.; Atividade anti-inflamatória, antiagregante plaquetária e efeitos centrais de alfa e beta amirina isolada de *Protium heptaphyllum* Aubl March. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-graduação em Farmacologia, 2004.

ARAMBEWELA, L.; ARAWWAWALA, M.; RAJAPAKSA, D.; *Piper betle*: a potential natural antioxidante. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 10-14, 2006.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BAST, A.; HAENEN, G.R.M.M.; DOELMAN, C.J.A.; Oxidants and antioxidants: State of the art. **The American Journal of Medicine**, v. 91, p. 2-13, 1991.

BERTOLDI, M.C.; **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa**. Viçosa: UFV, 2006. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G.; Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BLOIS, M.S.; Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAS-FILHO, R.; Química de Produtos Naturais: Importância, Interdisciplinaridade, Dificuldades e Perspectivas. A Peregrinação de um Pacatubano. **Química Nova**, v. 17, n. 5, p. 405-445, 1994.

BURATTO, A.P.; CARPES, S.T.; VECCHIA, P.D.; LOSS, E.M.S.; APPELT, P.; Determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana em Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 2, n. 1, p. 60-65, 2011.

CAMARGO, P.B.; SALOMÃO, R.P.; TRUMBORE, S.; MARTINELLI, L.A.; How Old are Large Brazil-Nut Trees (*Bertholletia excelsa*) in the Amazon? **Scientia Agricola**, v. 51, n. 2, p. 389-391, 1994.

CAMPOS, M.B.; COSTA, A.L.P.; BARBOSA, L.P.J.L.; BARBOSA, F.H.F.; Análise qualitativa Fitoquímica e atividade antimicrobiana do extrato bruto hidroalcoólico da casca de *Bertholletia excelsa* Humb. e Bomple (Lecytidaceae) frente a microrganismos gram-negativo. **Ciência Equatorial**, v. 1, n. 2, p. 6-14, 2011.

CARPES, S.T.; **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellífera* L. da região sul do Brasil**. Curitiba/PR, 2008. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, 2008.

CATANIA, A.S.; BARROS, C.R.; FERREIRA, S.R.G.; Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 550-559, 2009.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O.; Antioxidantes Dietéticos: Controvérsias e Perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N.; Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 88, n. 3, p. 113-118, 2007.

CHOUDHARY, D.; KALE, R.K.; Antioxidant and non-toxic properties of *Piper betle* Leaf extract: *in vitro* and *in vivo* studies. **Phytotherapy Research**, v. 16, p. 461-466, 2002.

CITÓ, A.M.G.L.; COSTA, F.B.; LOPES, J.A.D.; OLIVEIRA, V.M.M.; CHAVES, M.H.; Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl (March). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 4-7, 2006.

COSTA, P.A.; BALLUS, C.A.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H.T.; Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 43, p. 1603-1606, 2010.

CRAGG, G.M.; BOYD, M.R.; KHANNA, R.; KNELLER, R.; MAYS, T.D.; MAZAN, K.D.; NEWMAN, D.J.; SAUSVILLE, E.A.; International collaboration in drug discovery and development: the NCI experience. **Pure Applied Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 1619-1633, 1999.

DALY, D.C.; A taxonomic revision of *Protium* Burm. f. in Eastern Amazonia and the Guianas. **Ph.D. dissertation, City University of New York**, 1987.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M.; A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, n. 1, p. 91-98, 2001.

DI STASI, L.C. *Plantas Mediciniais: arte e ciências – Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP, 1996.

DINIZ, A.C.B.; ASTARITA, L.V.; SANTARÉM, E.R.; Alteração dos Metabólitos Secundários em Plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento. **Acta Botânica Brasilica**, v. 21, n. 2, p. 443-450, 2007.

DODSON, C.D.; DYER, L.A.; SEARCY, J.; WRIGHT, Z.; LETOURNEAU, D.K.; Cenocladamine, a dihydropyridone alkaloid from *Piper cenocladum*. **Phytochemistry**, v. 53, p. 51-54, 2000.

DROY-LEFAIX, M.T.; Effect of the antioxidant action of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) on aging and oxidative stress. **Age**, v. 20, p. 141-149, 1997.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUARTE, M.C.T.; LEME, E.E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A.A.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; Activity of Essential oils from Brazilian Medicinal Plants on *Escherichia coli*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 197-201, 2007.

ERNAWATI; NURLIANI, A.; Efek Antioksidan Ekstrak Etanol *Bulbus* Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. **Sains dan Terapan Kimia**, v. 6, n. 2, p. 93-100, 2012.

FACUNDO, V.A.; POLLLI, A.R.; RODRIGUES, R.V.; MILITÃO, J.S.L.T.; STABELLI, R.G.; CARDOSO, C.T.; Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum* H.B.K. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 733 – 742, 2008.

FACUNDO, V.A.; AZEVEDO, M.S.; RODRIGUES, R.V.; NASCIMENTO, L.F.; MILITÃO, J.S.L.T.; SILVA, G.V.J.; BRAZ-FILHO, R.; Chemical constituents from three medicinal plants: *Piper renitens*, *Siparuna guianensis* and *Alternanthera brasiliana*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 5, p. 1134-1139, 2012.

FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I.; SIMÕES, C.M.O.; Introdução a Análise Fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S.; Propriedade Inseticida dos Óleos Essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.

FELIPPE, L.G.; BALDOQUI, D.C.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; GUIMARÃES, E.F.; CICARELLI, R.M.; FURLAN, M.; Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 2, p. 445-450, 2008.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S.; Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, M.L.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; SILVA, A.A.; PEREIRA, R.C.; Avaliação da Atividade Herbicida de Algumas Quinonas. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 4, p. 999-1003, 2000.

FERREIRA, E.S.; SILVEIRA, C.S.; LUCIEN, V.G.; AMARAL, A.S.; Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 203-208, 2006.

FERREIRA, M.G.R.; Aspectos Sociais da Fitoterapia. **EMBRAPA Rondônia**, 1ª Ed, 2006.

GALLO, F.R.; PALAZZINO, G.; FEDERICI, E.; IURILLI, R.; GALEFFI, C.; CHIFUNDERA, K.; NICOLETTI, M.; Polyketides from *Eleutherine bulbosa*. **Natural Product Research**, v. 24, n. 16, p. 1578-1586, 2010.

GOLDBLATT, P.; MANNING, J.C.; Radiation of Pollination Systems in the Iridaceae of sub-Saharan Africa. **Annals of Botany**, v. 97, p. 317-344, 2006.

GUERRA, M.S.; Mitotic and Meiotic Analysis of a Pericentric Inversion Associated with a Tandem Duplication in *Eleutherine bulbosa*. **Chromosoma (Berl)**, v. 97, p. 80-87, 1988.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, G.; ROSSI, D.; PAGANETTO, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADO, M. E.; BRUNI, R.; Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) Essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, p. 39-48, 2009.

HA, L.M.; HUYEN, D.T.T.; KIEM, P.V.; MINH, C.V.; VAN, N.T.H.; NHIEM, N.X.; TAI, B.H.; LONG, P.Q.; ANH, B.K.; KIM, S.H.; HONG, H.J.; KIM, S.; KOH, Y.S.; KIM Y.H.; Chemical Constituents of the Rhizome of *Eleutherine bulbosa* and Their Inhibitory Effect on the Pro-Inflammatory Cytokines Production in Lipopolysaccharide-Stimulated Bone Marrow-derived Dendritic Cells. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 34, n. 2, p. 633-636, 2013.

HALLIWELL B.; Antioxidants in Human Health and Disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33-50, 1996.

HALLIWELL B.; GUTTERIDGE, J.M.C.; Free radicals in biology and medicine. 4^aEd, Oxford, New York, 2007.

HARBORNE, J.B.; **Introduction to ecological biochemistry**. 3^a ed. Elsevier Academic Press, 1988.

HARRIS, E.D.; Copper as a Cofactor and Regulator of Copper, Zinc Superoxide Dismutase. **The Journal of Nutrition**, American Institute of Nutrition, Symposium: Regulation of Antioxidant Enzymes, p. 636-640, 1992.

HASLAM, E.; Practical Polyphenolics From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1998.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

IFESAN, B.O.T.; HAMTASIN, C.; MAHABUSARAKAM, W.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P.; Inhibitory Effect of *Eleutherine americana* Merr. Extract on *Staphylococcus aureus* Isolated from Food. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 1, p. 31-36, 2009.

JARAMILLO, M.A.; MANOS, P.S.; Phylogeny and Patterns of Floral Diversity in the Genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, v. 88, n. 4, p. 706-716, 2001.

JOHN, J.A.; SHAHIDI, F.; Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, v. 2, p. 196-209, 2010.

KARIN, M.; BEN-NERIAH, Y.; Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-(kappa) B activity. **Annual Reviews of Immunology**, v. 18, p. 621-663, 2000.

KITAMURA, P.C.; MULLER, C.H.; Castanhais Nativos de Marabá-PA: Fatores de Depredação e Bases para a sua Preservação. **Documentos do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido/ EMBRAPA- CPATU**, Belém, v. 30, p. 5-32, 1984.

KITTS, D.D.; Bioactive substances in food: identification and potential uses. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 72, n. 4, p. 423-434, 1994.

KLEIJNEN, J.; KNIPSCHILD, P.; *Ginkgo biloba*. **The Lancet**, v. 340, p. 1136-1139, 1992.

KOLEVA, I.I.; BEEK, T.A.; LINSSEN, J.P.H.; GROOT, A.; EVSTATIEVA, L.N.; Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 8-17, 2002.

LIANDA, R.L.P.; SANT'ANA, L.D.O.; ECHEVARRIA, A.; CASTRO, R.N. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 4, p. 618-627, 2012.

LIMA, M.R.; SANTOS, M.R.A.; Aspectos Etnobotânicos da Medicina Popular no Município de Buritis, Rondônia. **Revista Fitos**, v. 2, n. 2, p. 36-41, 2006.

LIN, J.; PUCKREE, T.; MVELASE, T.P.; Anti-diarrhoeal Evaluation of Some Medicinal Plants used by Zulu Traditional healers. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 1, p. 53-56, 2002.

LIU, Y.; KERN, J.T.; WALKER, J.R.; JOHNSON, J.A.; SCHULTZ, P.G.; LUESCH, H.; A genomic screen for activators of the antioxidant response element. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 104, n. 12, p. 5205-5210, 2007.

LIZCANO, L.J.; BAKKALI, F.; RUIZ-LARREA, M.B.; RUIZ-SANZ, J.I.; Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1566-1570, 2010.

LOKVAM, J.; FINE, P.V.A.; An Oxidized Squalene Derivative From *Protium subserratum* Engl. (Engl.) Growing in Peru. **Molecules**, v. 17, p. 7451-7457, 2012.

MACHADO, L.B.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; Seasonal variation in the composition of the essential oils from the leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 338-341, 2003.

MACHADO, H.; NAGEM, T.J.; PETERS, V.M.; FONSECA, C.S.; OLIVEIRA, T.T.; Flavonóides e seu Potencial Terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia de Reprodução**, v. 26, p. 37-44, 2008.

MAIA, R.M.; BARBOSA, P.R.; CRUZ, F.G.; ROQUE, N.F.; FASCIO, M.; Triterpenos da Resina de *Protium hertaphyllum* March (BURSERACEAE): Caracterização em Misturas Binárias. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 623-626, 2000.

MALHEIROS, L.C.S.; Isoeuleterol e Isoeuleterina: Potenciais marcadores químicos da tintura de *Eleutherine plicata* Herb (Iridaceae) e atividades microbiológica e antioxidante. Dissertação de Mestrado, **Universidade Federal do Pará**, pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2008.

MARCO, G.J.; A Rapid Method for Evaluation of Antioxidants. **The Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MARIOT, M.P.; BARBIERI, R.L.; Metabólitos Secundários e Propriedades Mediciniais da Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. E *M. aquifolium* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 89-99, 2007.

MARQUES D.D.; SARTORI R.A.; LEMOS, T.L.G.; MACHADO, L.L.; SOUZA, J.S.N.; MONTE, F.J.Q. Chemical composition of the essential oil from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227-230, 2010.

MARQUINA-CHIDSEY, G.; MONRO, B.; VELÁZQUEZ, E.P.I.; VARGAS, M.; Evaluation of the Extraction of Tacamahaco (*Protium hertaphyllum*) Resin's Essential Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. **III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia)**, 2013.

MELO, E.A.; MANCINI FILHO, J.; GUERRA, N.B.; MACIEL, G.R.; Atividade Antioxidante de Extrato de Coentro (*Coriandrum sativum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 195-199, 2003.

MELO, M.F.F.; MACEDO, S.T.; DALY, D.C.; Morfologia de frutos, sementes e plântulas de nove espécies de *Protium* Burm. f. (Burseraceae) da Amazônia Central, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 503-520, 2007.

MENDES, B.; VENÂNCIO, C.M.N.; JARDIM, M.A.G.; SILVA, J.C. Informações fitoterápicas e composição química de *Mikania lindleyana* DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 83, p. 27-29, 2002.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant Activity. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MONACHE, F.D.; COMPAGNONE, R.S.; A secolignan from *Peperomia glabella*. **Phytochemistry**, v. 43, p. 1097-1098, 1996.

MORAIS, S.M.; FACUNDO, V.A.; BERTINI, L.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; ANJOS JÚNIOR, J.F.; FERREIRA, S.A.; BRITO, E.S.; NETO, M.A.S.; Chemical composition and larvicidal activity of essential oils *Piper* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 670-675, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAVICKIENE, H.M.D.; ALÉCIO, A.C.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; CAVALHEIRO, A.J.; FURLAN, M.; Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry**, v. 55, p. 621-626, 2000.

NAVICKIENE, H.M.D.; MORANDIM, A.A.; ALÉCIO, A. C.; REGASINI, L.O.; BERGAMO, D.C.B.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO,

M.J.; Composition and Antifungal Activity of Essential Oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper turbeculatum*. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 467-470, 2006.

PADILLA, F.C.; RINCÓN, A.M.; RACHED, L. B.; SUÁREZ, A.; *Protium neglectum*, *Podocalyx loranthoides*, and *Brosimum utile* source of flavonoids and other phenolic compounds with antioxidant activity. **Revista Facultad de Farmacia**, v. 71, n. 1, p. 8-14, 2008.

PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O.D.; PRASAD, A.K.; WENGEL, J.; OLSEN, C.E.; BOLL, P.M.; Phytochemistry of the Genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, pp. 597-673, 1997.

PENNINGTON, J.A.T. Food Composition Databases for Bioactive Food Components. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.15, p. 419-434, 2002.

PIRES, L.V.; SILVA, A.M.O.; ALENCAR, L.L.; PIMENTEL, J.A.C.; MANCINI-FILHO, J.; COZZOLINO, S.M.F.; Investigação da Concentração de selênio e dos compostos fenólicos presentes na Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) e sua atividade antioxidante *in vitro*. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 36, p. 7, 2011.

PRANCE, G.T.; MORI, S.A.; Observations on the Fruits and Seeds of Neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, v. 30, p. 21-33, 1978.

RATES, S.M.K.; Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57-69, 2001.

REDDY, G.M.; RAO, V.; SARMA, D.; REDDY, T.K.; SUBRAMANYAM, P.; NAIDU, M.D.; Evaluation of antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl method of 40 medicinal plants. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 24, p. 4082-4086, 2012.

RENZ, S.V. **Oxidação e Antioxidantes**. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do tecido animal, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, pg.1-11, 2003.

REZENDE, H.A.; COCCO, M.I.M.; A Utilização de Fitoterapia no Cotidiano de uma População Rural. **Revista da Escola de Enfermagem – USP**, v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

RIBEIRO, E.M., JÚNIOR, V.F.V.; SIANI, A.C.; LIMA, E.S.; GUIMARÃES, A.C.; Avaliação da Atividade Antioxidante de Cinco Espécies de *Protium* pelos Métodos do DPPH e β -Caroteno/Ácido linoleico. **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011.

ROCHA, F.D.; YANO, M.; CUNHA, M.R.; GABRIEL, F.T.; CORDEIRO, R.S.B.; MENEZES, F.S.; KAPLAN, M.A.; Brazilian Bromeliaceae Species: Isolation of Arylpropanoid Acid Derivatives and Antiradical Potential. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 2, p. 240-245, 2010.

SALOMÃO, R.P.; ROSA, N.A.; CASTILHO, A.; MORAIS, K.A.C.; Castanheira-do-Brasil recuperando áreas degradadas e provendo alimento e renda para comunidades da Amazônia Setentrional. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, v. 1, n. 2, p. 65-78, 2006.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A.P.; **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**, 1ª Ed., ULBRA, Canoas/RS, 2004.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F.; Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. **Food Research International**, v. 32, p. 407-412, 1999.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

^aSCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MARGARETH, L.A.; Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

^bSCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R.; Produtos de Origem Vegetal e o Desenvolvimento de Medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T.; HEINONEN, M.I.; HOPIA, A.; HUYNH-BA, T.; LAMBELET, P.; MCPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H.; TIJBURG, L.; Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds, **European Food Research and Technology**, v. 212, p. 319-328, 2001.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M.; Licopeno como Agente Antioxidante. **Revista de nutrição**, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SIANI, A.C.; RAMOS, M.F.S.; MENEZES-DE-LIMA JR., O.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.; FERNADEZ-FERREIRA, E.; SOARES, R.O.A.; ROSAS, E.C.; SUSUNAGA, G.S.; GUIMARÃES, A.C.; ZOGHBI, M.G.B.; HENRIQUES, M.G.M.O.; Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Jornal of Ethnopharmacology**, v.66, p. 57-69, 1999.

SILVA, J.R.A.; ZOGHBI, M.G.B.; PINTO, A.C.; GODOY, R.L.O.; AMARAL, A.C.; Analysis of the Hexane Extracts From Seven Oleoresins of *Protium* Species. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, p. 305-308, 2009.

SILVA, N.L.A.; MIRANDA, F.A.A.; CONCEIÇÃO, G.M.; Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n.2, p.1-17, 2010.

SILVA, S.S.; Estudo do xilema secundário de espécies da família Burseraceae produtoras de óleos. Tese de doutorado – Universidade Federal de Lavras, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2002.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V.; Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

SOARES, S.E.; Ácidos Fenólicos como Antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-Jr, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H.; Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TOMEI, R.R.; SALVADOR, M.J.; **Metodologias Analíticas Atuais Para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais**, XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, p. 1963-1967, 2007.

UPADHYAY, A.; CHATTOPADHYAY, P.; GOYARY, D.; MAZUMDER, P.M.; VEER, V.; *Eleutherine indica* L. accelerates *in vivo* cutaneous wound healing by stimulating Smad-mediated collagen production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, p. 490-494, 2013.

VALADEAU, C.; CASTILLO, J.A.; SAUVAIN, M.; LORES, A.F.; BOURDY, G.; The Rainbow Hurts my skin: Medicinal concepts and plants uses among the Yanesha (Amuesha), an Amazonian Peruvian ethnic group. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 175-192, 2010.

VALADEAU, C.; Catégorisation des plantes et des entités étiologiques chez les Yanesha (piémont amazonien Du Pérou). **Bulletin de l'Institut Français d'Études Andines**, v. 41, n. 2, p. 241-281, 2012

VALDIVA, C.; MARQUEZ, N.; ERIKSSON, J.; VILASECA, A.; MUNÕZ, E.; STERNER, O.; Bioactive alkenyphenols from *Piper obliquum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 4120-4126, 2008.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E.A.M.; CUNHA, D.F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M.V.M.; BERNARDES, M.M.; JORDÃO Jr, A.A.; **Papel dos nutrientes na Peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante**, Simpósio: Nutrição Clínica, Cap. III, v. 31, p. 31-44 Ribeirão Preto/São Paulo, 1998.

VEIGA Jr., V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M.; Plantas Medicinais: Cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEGAS JÚNIOR, C.; Terpenos com Atividade Inseticida: Uma Alternativa para o Controle Químico de Insetos. **Química nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VELOZO, L.S.M.; FERREIRA, M.J.P.; SANTOS, M.I.S.; MOREIRA, D.L.; EMERENCIANO, V.P.; KAPLAN, M.A.C.; Unusual chromenes from *Peperomia blanda*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 492-496, 2006.

VIEIRA, A.H.; BENTES-GAMA, M.M.; OLIVEIRA, A.C.; ROCHA, R.B.; LOCATELLI, M.; Comportamento Fenológico da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.) em Porto Velho, Rondônia. **Projeto Kamukaia**, Anais do 1º Seminário do Projeto Kamukaia, Embrapa, Acre, 2008.

VILLEGAS, L.F.; FERNÁNDEZ, I.D.; MALDONADO, H.; TORRES, R.; ZAVALATA, A.; VAISBERG, A.J.; HAMMOND, G.B.; Evaluation of the Wound-healing Activity of Selected Traditional Medicinal Plants from Perú. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 55, n. 3, p. 193-200, 1997.

WEEKS, A.; DALY, D.C.; SIMPSON, B.B.; The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (Burseraceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 35, p. 85-101, 2005.

WINK, M.; Physiology of secundar product formation in plants. In: CHARLWOOD, B.V.; RHODES, M.J.C.; **Secondary products from plant tissue culture**. Oxford: Clarendon, 1990.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V.; Fármacos e Fitoterápicos: A Necessidade do Desenvolvimento da Indústria de Fitoterápicos e Fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZUQUE, A.L.F.; WATANABE, E.S.; FERREIRA, A.M.T.; ARRUDA, A.L.A.; RESENDE, U.M.; BUENO, N.R.; CASTILHO, R.O.; Avaliação das Atividades Antioxidantes, Antimicrobiana e Citotóxica de *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 2, p. 129-136, 2004.

APÊNDICE

Bertholletia excelsa casca – extrato EtOH

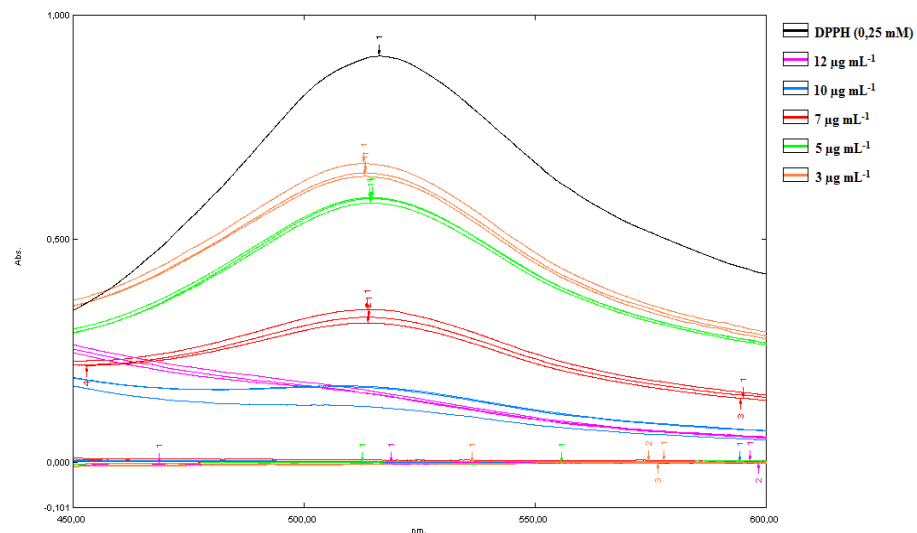


Figura 19: Espectro *Bertholletia excelsa* casca – extrato EtOH

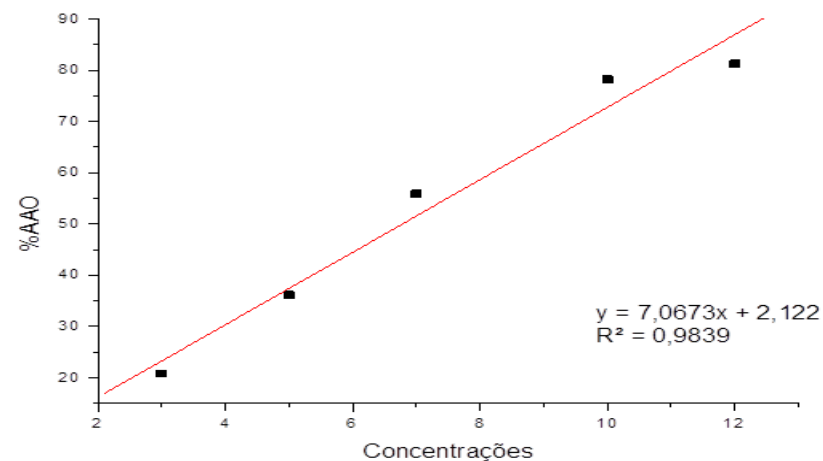


Figura 20: Regressão linear *Bertholletia excelsa* casca – extrato EtOH

Tabela 3: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* casca – extrato EtOH

<i>Bertholletia excelsa</i> casca	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	12	81,18±0,37	6,77±0,05
	10	78,12±1,20	
	7	55,88± 1,33	
	5	36,12±0,66	
	3	20,80±1,28	

Bertholletia excelsa casca – fração EtOAc

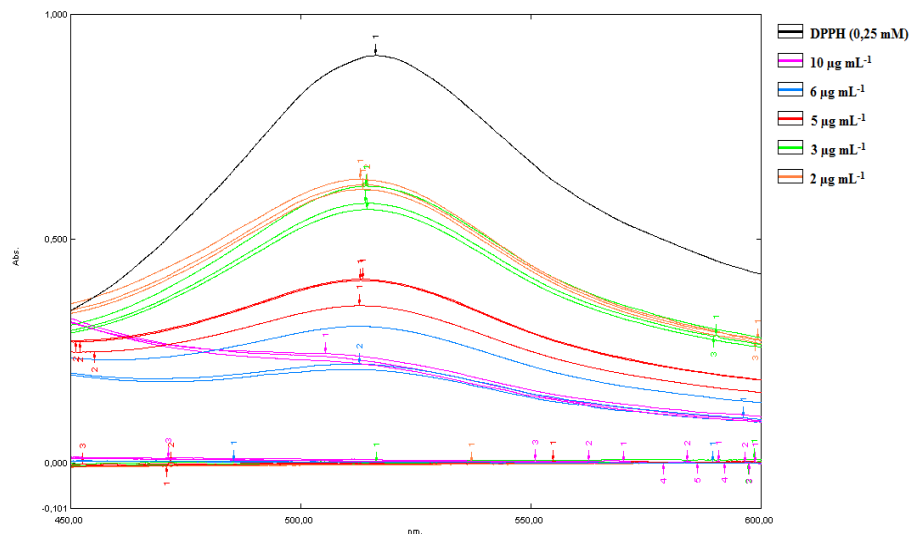


Figura 21: Espectro *Bertholletia excelsa* casca – fração EtOAc

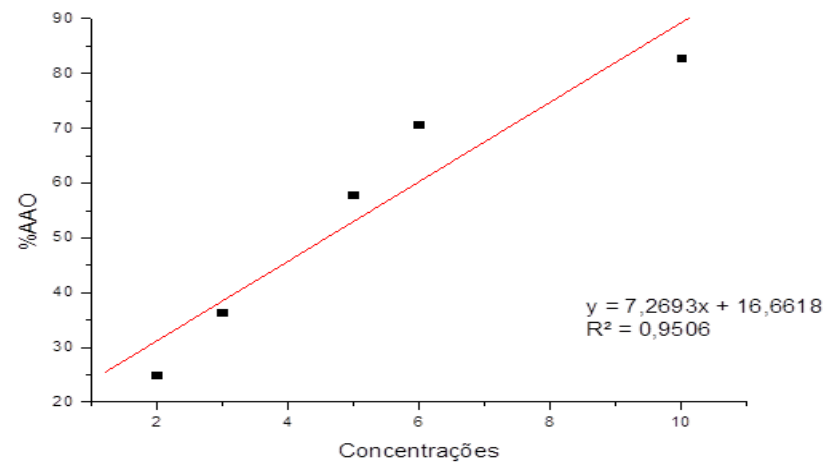


Figura 22: Regressão linear *Bertholletia excelsa* casca – fração EtOAc

Tabela 4: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* casca - fração EtOAc

<i>Bertholletia excelsa</i> casca	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	10	82,66±0,64	4,58±0,17
	6	70,62±1,83	
	5	57,78±3,59	
	3	36,34±2,95	
	2	24,91±1,27	

Bertholletia excelsa casca – fração Acet

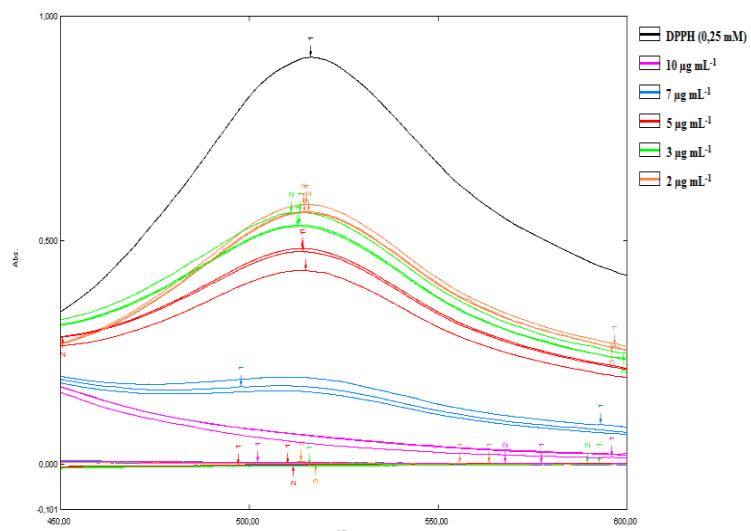


Figura 23: Espectro *Bertholletia excelsa* casca – fração Acet

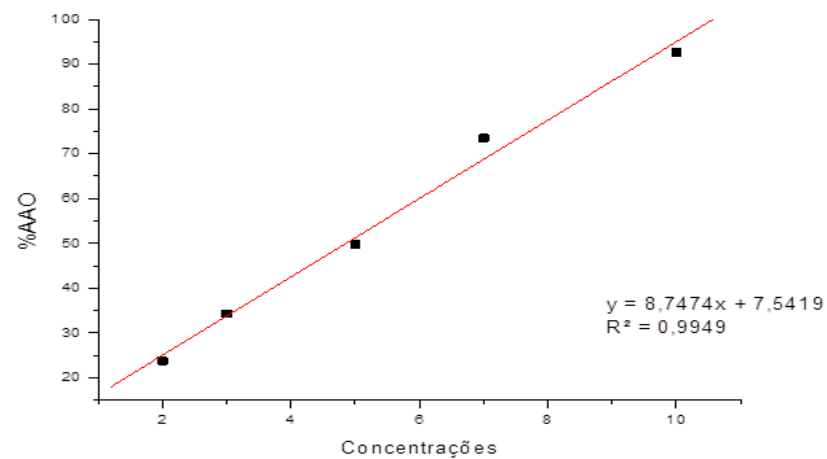


Figura 24: Regressão linear *Bertholletia excelsa* casca – fração Acet

Tabela 5: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* casca - fração Acet

<i>Bertholletia excelsa</i> casca	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Acetona	10	92,59±1,33	4,85±0,14
	7	73,48±1,05	
	5	49,72±2,92	
	3	34,34±2,07	
	2	23,76±1,38	

Bertholletia excelsa ouriço – extrato EtOH

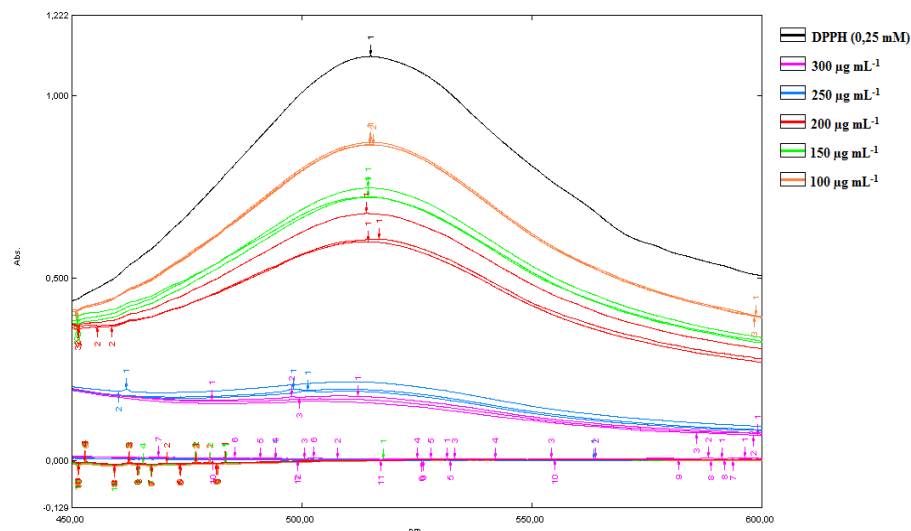


Figura 25: Espectro *Bertholletia excelsa* ouriço – extrato EtOH

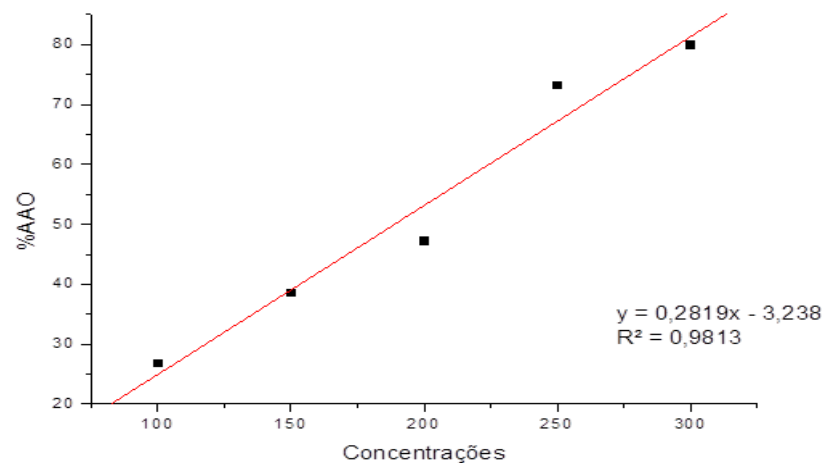


Figura 26: Regressão linear *Bertholletia excelsa* ouriço – extrato EtOH

Tabela 6: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* ouriço - extrato EtOH

<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	300	79,90±1,12	166,21±12,51
	250	73,22±1,85	
	200	47,24±3,55	
	150	38,53±1,19	
	100	26,78±0,34	

Bertholletia excelsa ouriço – fração EtOAc

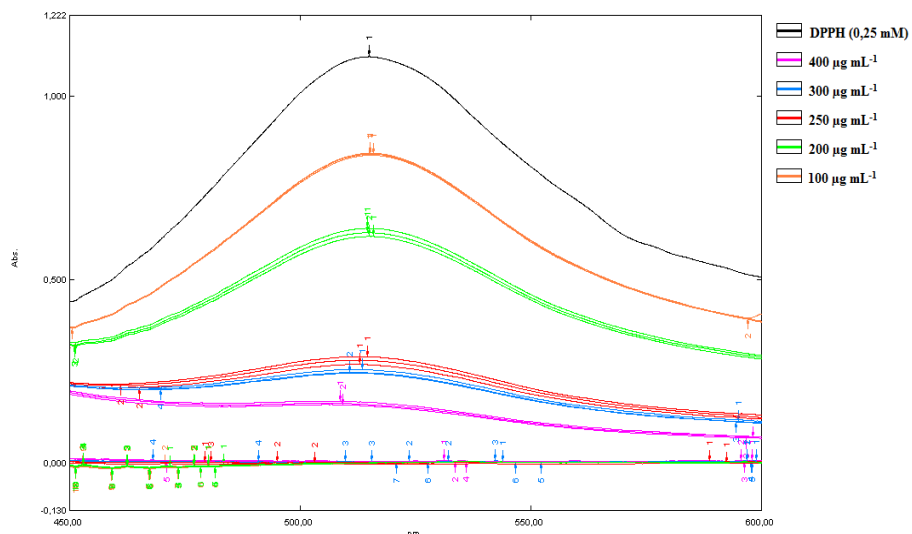


Figura 27: Espectro *Bertholletia excelsa* ouriço – fração EtOAc

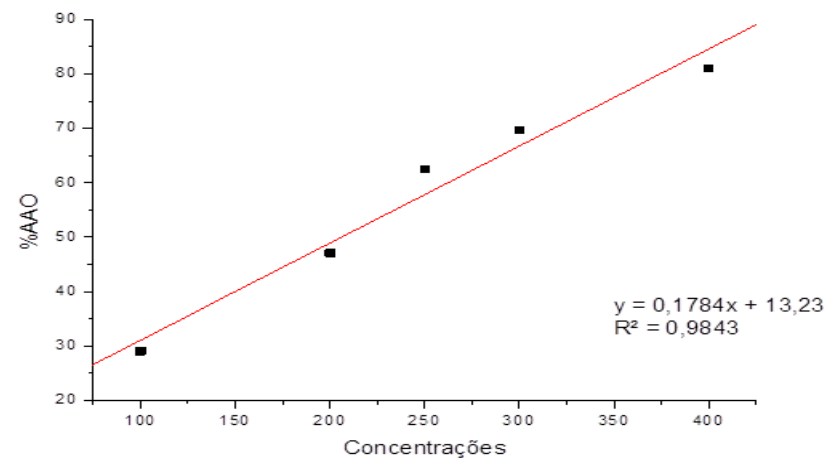


Figura 28: Regressão linear *Bertholletia excelsa* ouriço – fração EtOAc

Tabela 7: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* ouriço - fração EtOAc

<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	400	80,93±0,64	206,11±2,80
	300	69,68±0,64	
	250	62,47±1,57	
	200	47,07±0,93	
	100	29,00±0,21	

Bertholletia excelsa ouriço – fração Acet

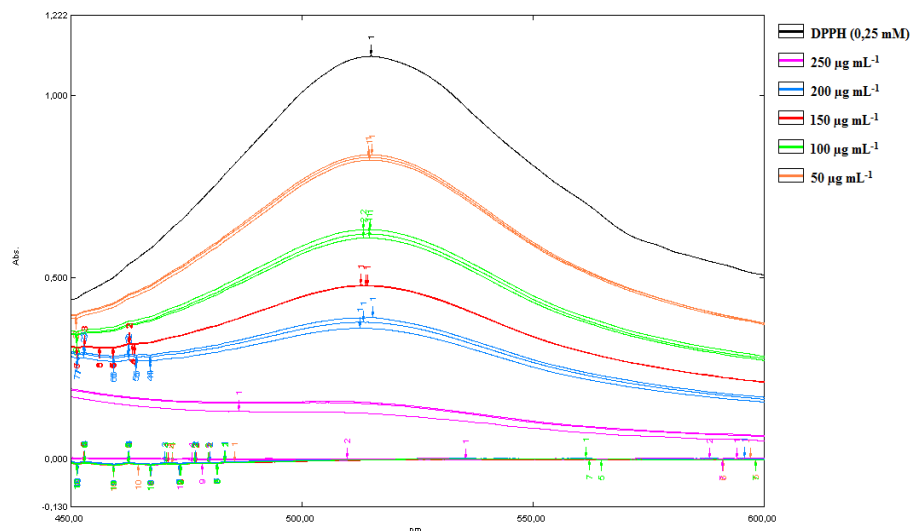


Figura 29: Espectro *Bertholletia excelsa* ouriço – fração Acet

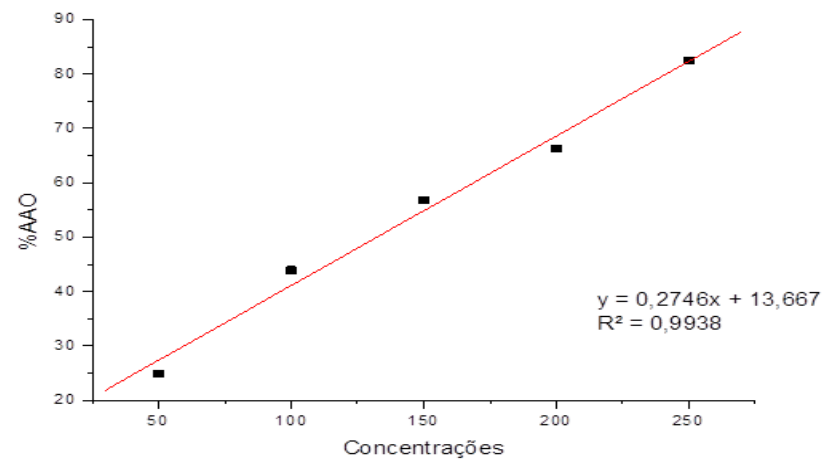


Figura 30: Regressão linear *Bertholletia excelsa* ouriço – fração Acet

Tabela 8: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* ouriço - fração Acet

<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Acetona	250	82,42±2,05	132,31±0,32
	200	66,20±1,36	
	150	56,81±0,09	
	100	43,93±1,04	
	50	24,91±0,68	

Bertholletia excelsa ouriço – fração MeOH

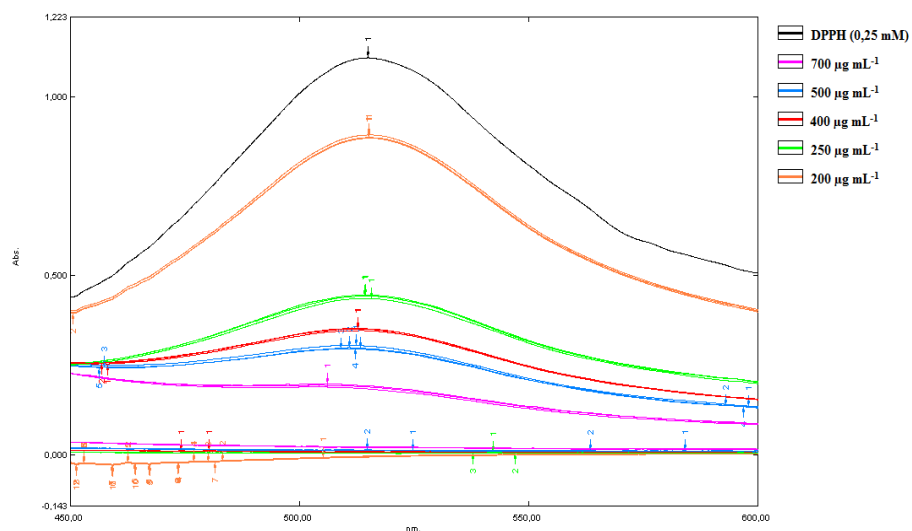


Figura 31: Espectro *Bertholletia excelsa* ouriço – fração MeOH

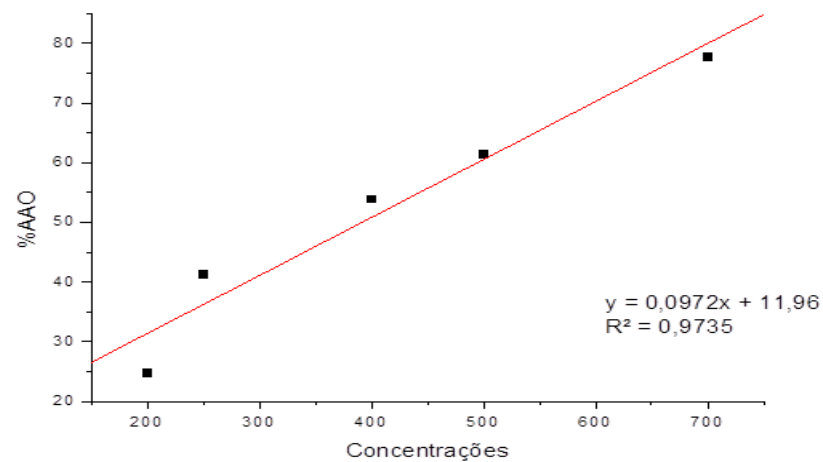


Figura 32: Regressão linear *Bertholletia excelsa* ouriço – fração MeOH

Tabela 9: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Bertholletia excelsa* ouriço - fração MeOH

<i>Bertholletia excelsa</i> ouriço	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
MeOH	700	77,72±0,62	391,46±4,15
	500	61,43±0,63	
	400	53,86±0,42	
	250	41,24±0,69	
	200	24,72±0,40	

***Eleutherine bulbosa* – extrato EtOH**

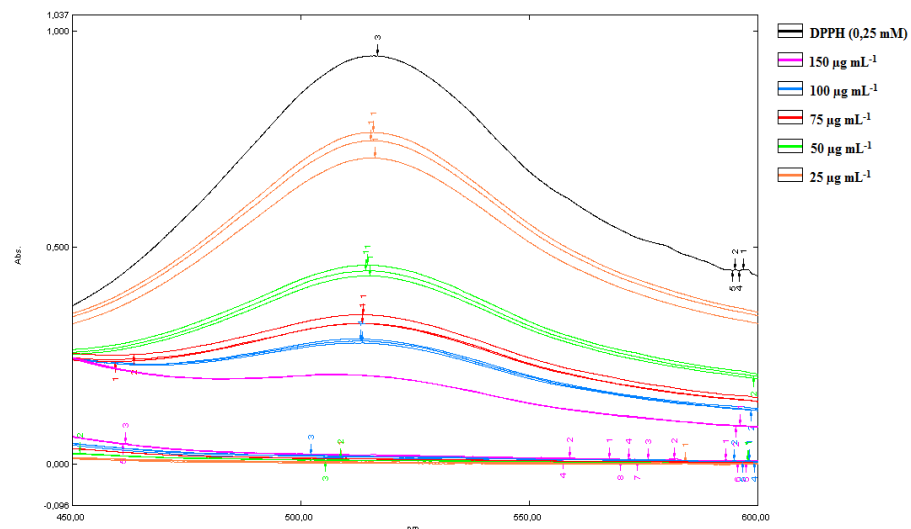


Figura 33: Espectro *Eleutherine bulbosa* – extrato EtOH

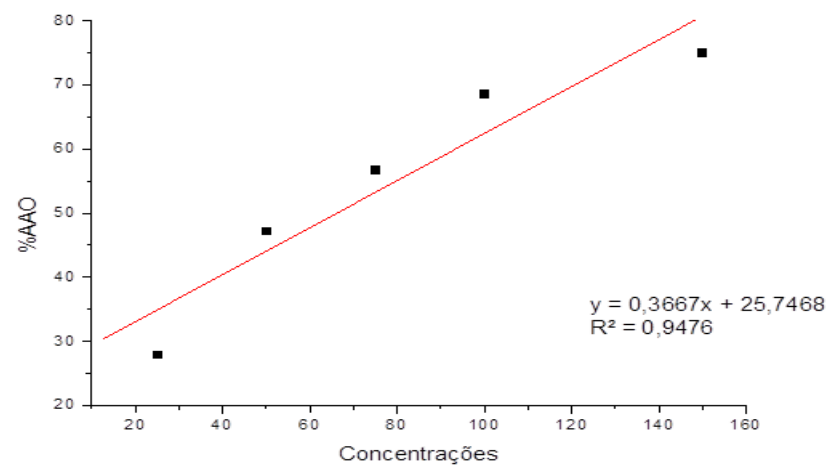


Figura 34: Regressão linear *Eleutherine bulbosa* – extrato EtOH

Tabela 10: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Eleutherine bulbosa* – extrato EtOH

<i>Eleutherine bulbosa</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	150	75,04±0,08	77,17±2,33
	100	63,10±0,62	
	75	56,52±1,68	
	50	39,73±1,73	
	25	21,36±3,22	

***Eleutherine bulbosa* – fração CHCl₃**

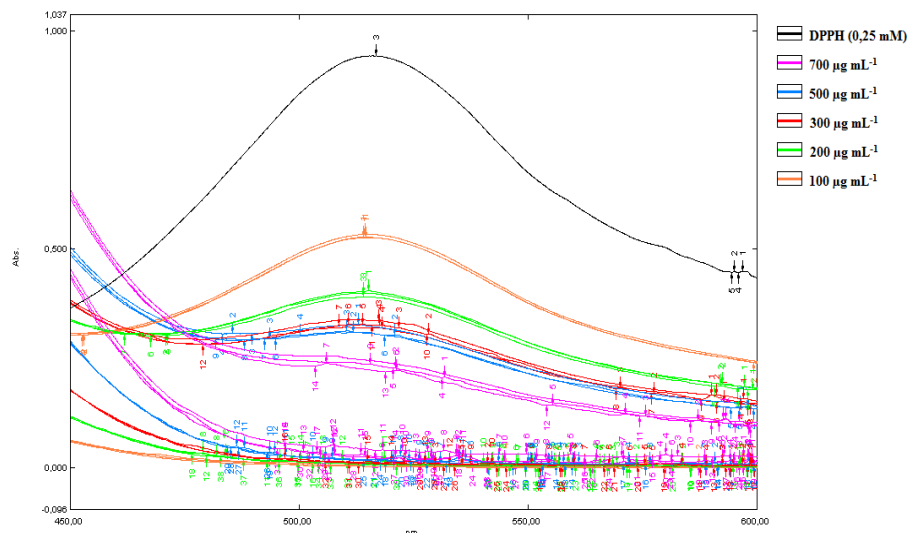


Figura 35: Espectro *Eleutherine bulbosa* – fração CHCl₃

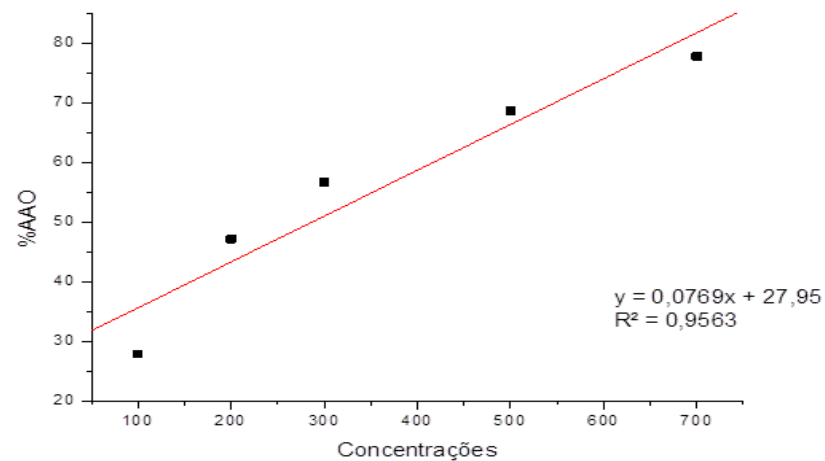


Figura 36: Regressão linear *Eleutherine bulbosa* – fração CHCl₃

Tabela 11: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Eleutherine bulbosa* – fração CHCl₃

<i>Eleutherine bulbosa</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
CHCl ₃	700	77,73±1,21	286,88±5,65
	500	68,61±1,05	
	300	56,74±1,24	
	200	47,13±0,91	
	100	27,91±0,56	

***Eleutherine bulbosa* – fração EtOAc**

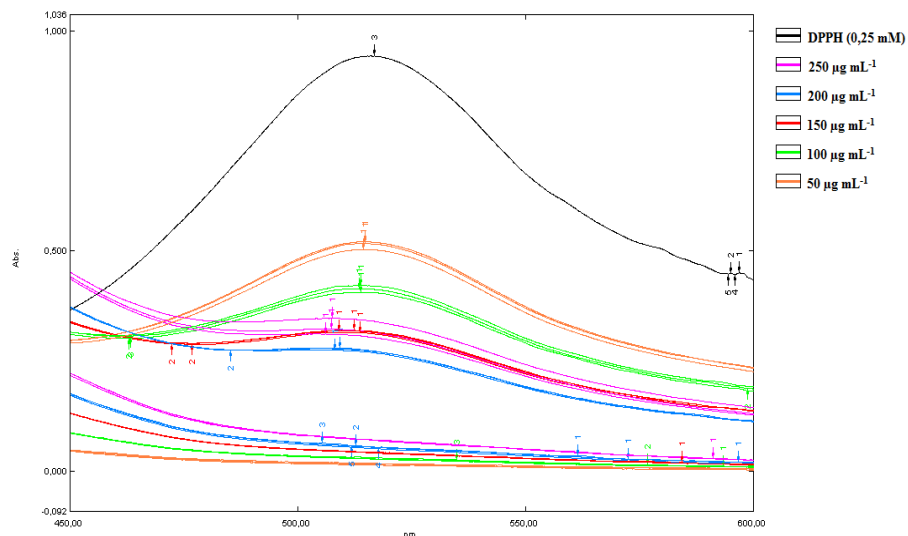


Figura 37: Espectro *Eleutherine bulbosa* – fração EtOAc

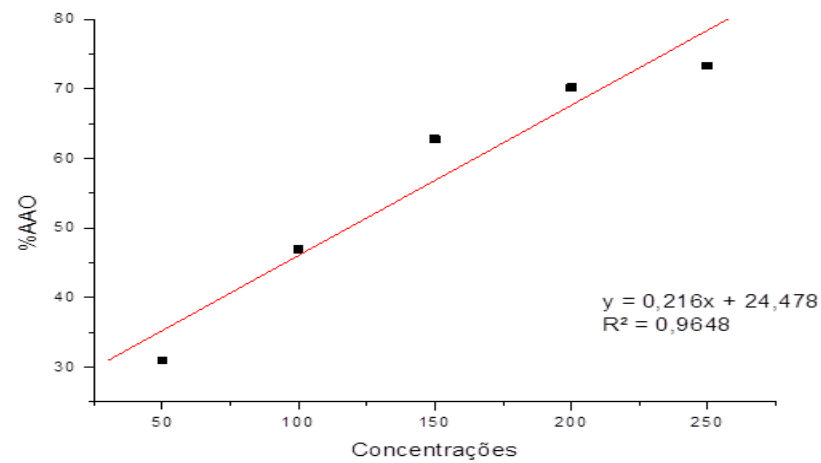


Figura 38: Regressão linear *Eleutherine bulbosa* – fração EtOAc

Tabela 12: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Eleutherine bulbosa* – fração EtOAc

<i>Eleutherine bulbosa</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	250	73,38±2,02	118,16±2,40
	200	70,22±0,29	
	150	62,80±0,34	
	100	47,00±0,97	
	50	30,99±0,49	

***Eleutherine bulbosa* – fração MeOH**

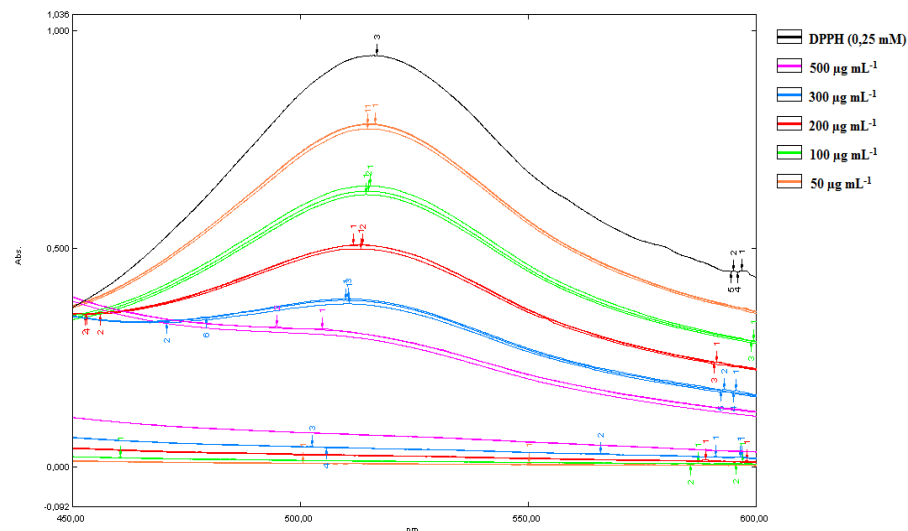


Figura 39: Espectro *Eleutherine bulbosa* – fração MeOH

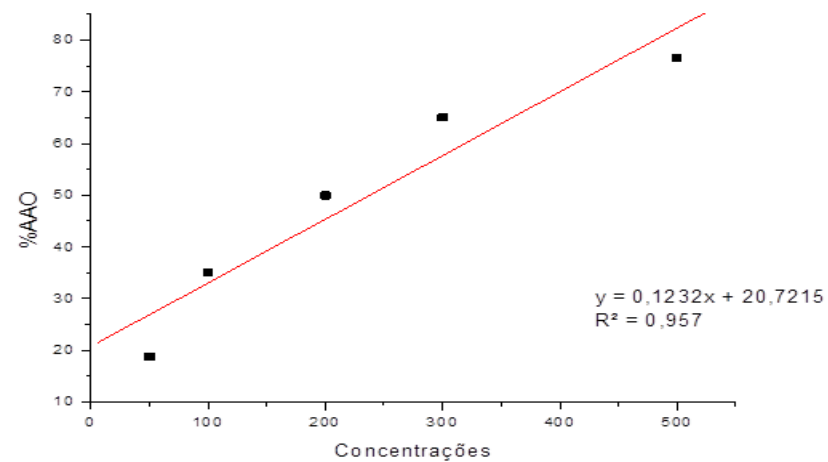


Figura 40: Regressão linear *Eleutherine bulbosa* – fração MeOH

Tabela 13: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Eleutherine bulbosa* – fração MeOH

<i>Eleutherine bulbosa</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
MeOH	500	76,50±0,60	237,59±2,47
	300	65,02±0,59	
	200	49,95±0,55	
	100	35,05±1,11	
	50	18,78±0,68	

Piper obliquum – extrato EtOH

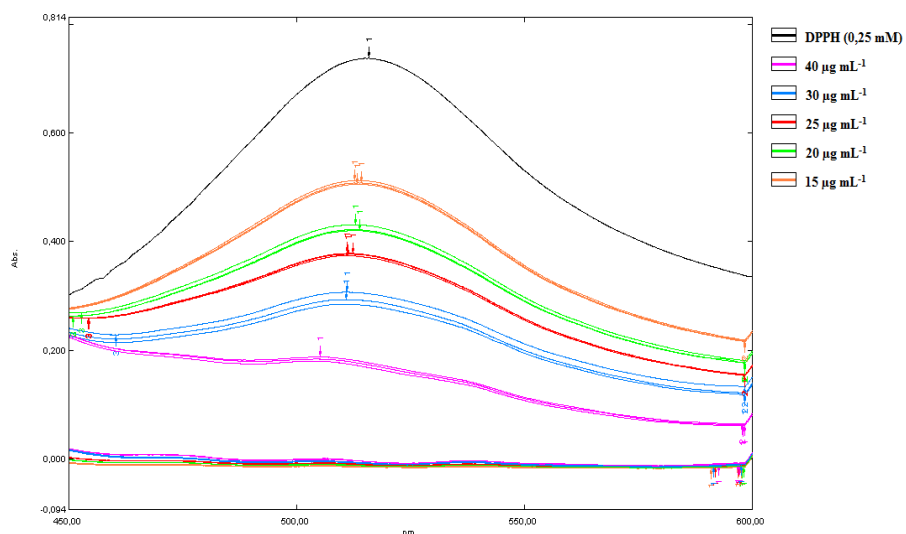


Figura 41: Espectro *Piper obliquum* – extrato EtOH

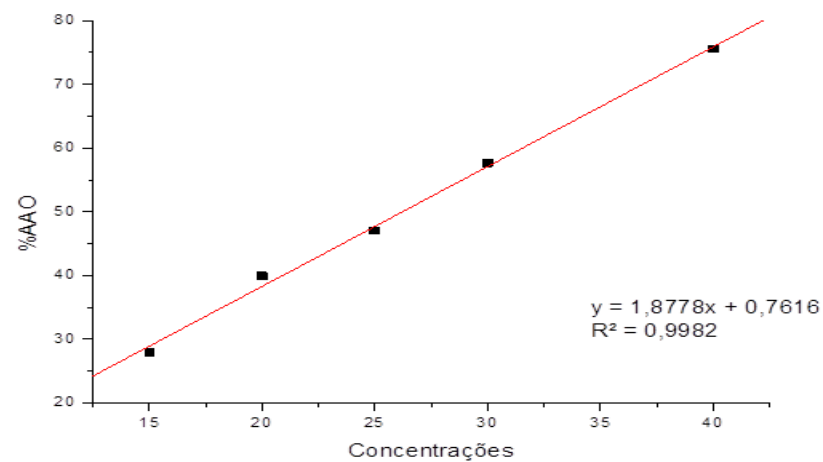


Figura 42: Regressão linear *Piper obliquum* – extrato EtOH

Tabela 14: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – extrato EtOH

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	40	75,51±0,62	26,23±0,28
	30	57,63±1,57	
	25	47,01±0,36	
	20	39,92±0,81	
	15	27,85±0,50	

***Piper obliquum* – fração Hex**

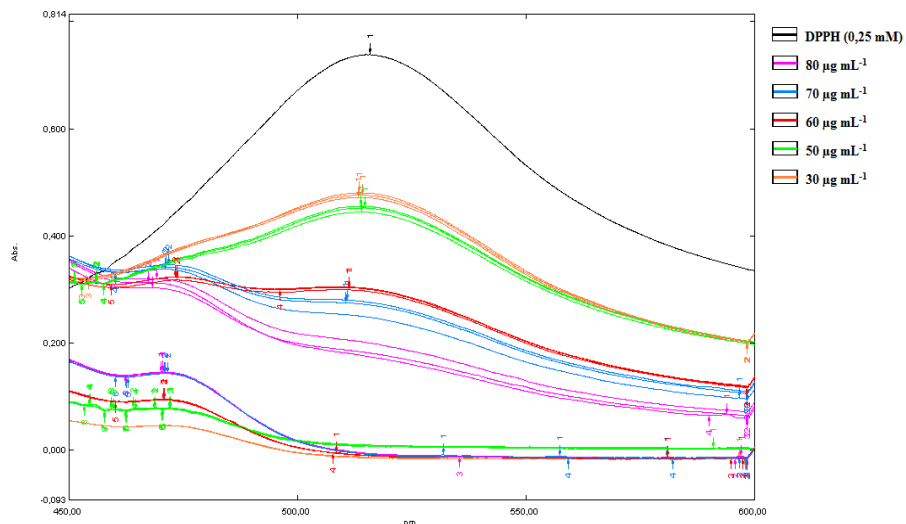


Figura 43: Espectro *Piper obliquum* – fração Hex

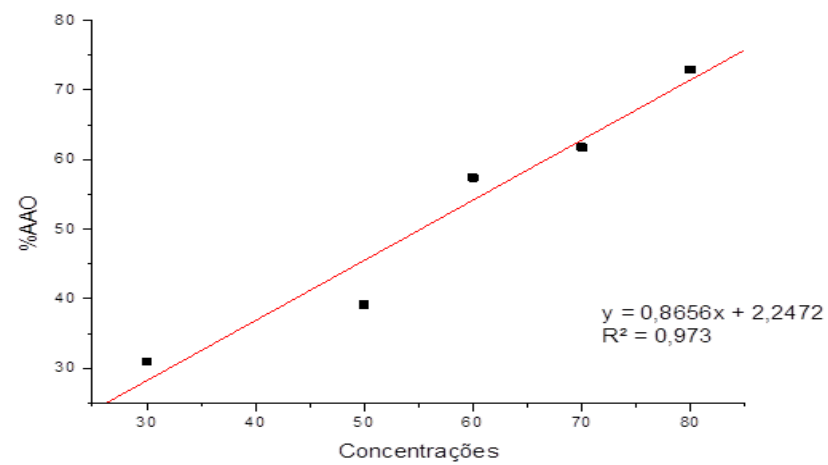


Figura 44: Regressão linear *Piper obliquum* – fração Hex

Tabela 15: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – fração Hex

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Hex	80	72,98±1,89	55,18±0,99
	70	61,77±2,11	
	60	57,41±0,42	
	50	39,13±0,79	
	30	30,98±0,57	

Piper obliquum – fração CHCl₃

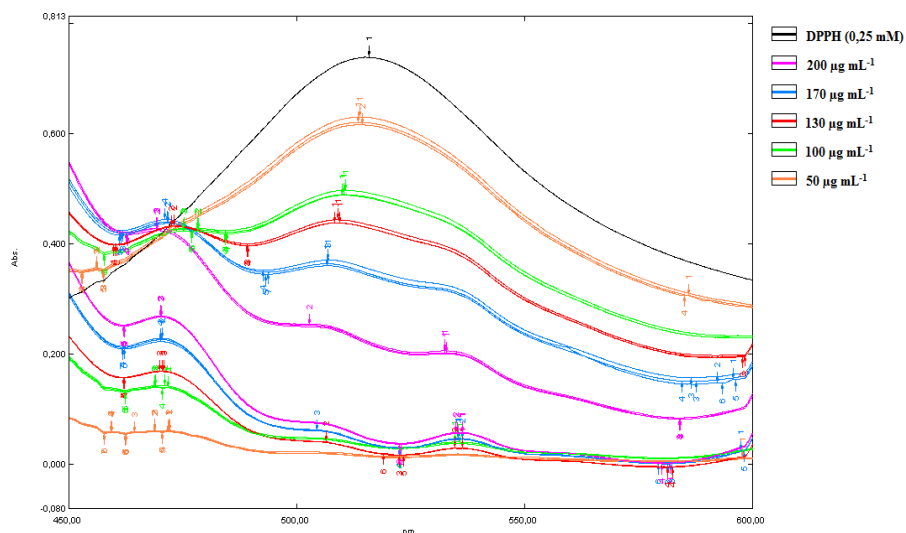


Figura 45: Espectro *Piper obliquum* – fração CHCl₃

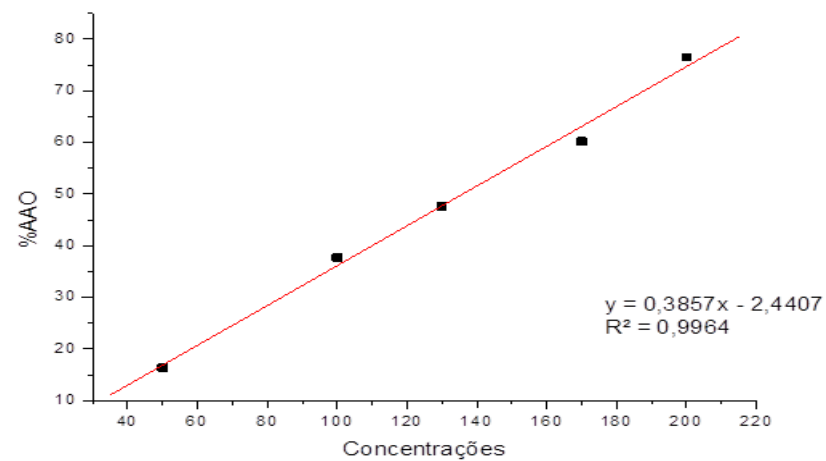


Figura 46: Regressão linear *Piper obliquum* – fração CHCl₃

Tabela 16: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – fração CHCl₃

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
CHCl ₃	200	76,53±0,30	135,98±1,11
	170	60,19±0,80	
	130	47,66±0,44	
	100	37,71±0,68	
	50	16,39±0,99	

***Piper obliquum* – fração EtOAc**

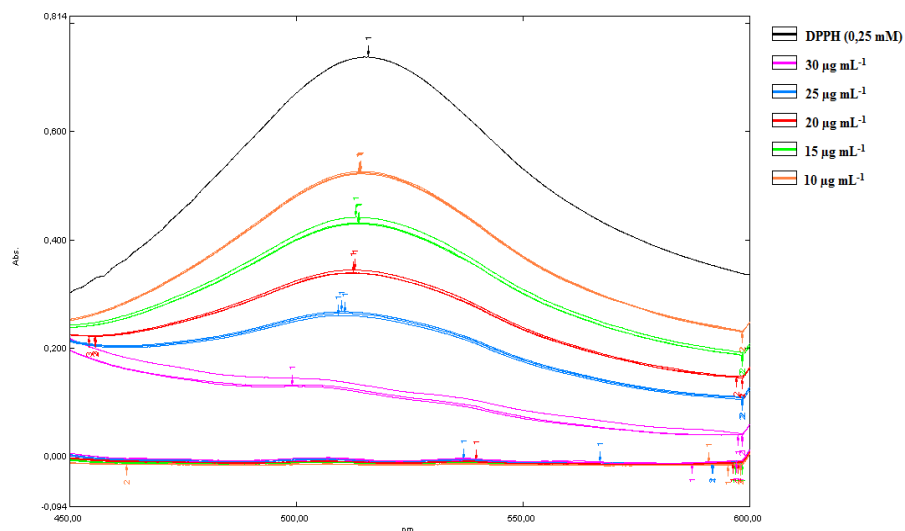


Figura 47: Espectro *Piper obliquum* – fração EtOAc

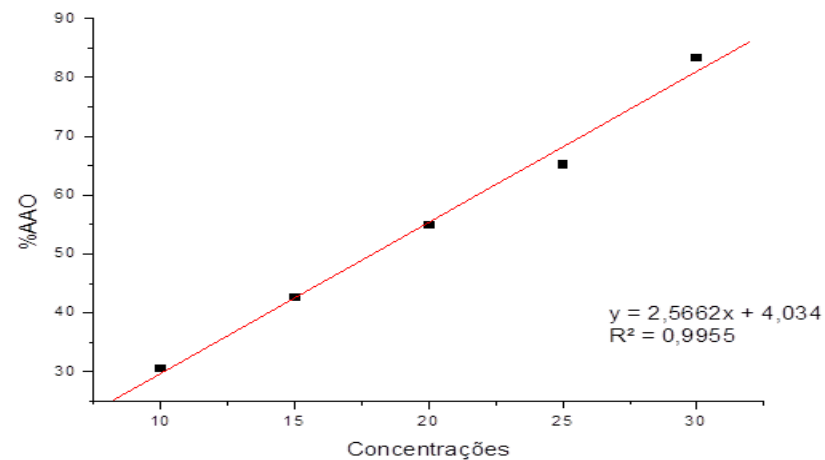


Figura 48: Regressão linear *Piper obliquum* – fração EtOAc

Tabela 17: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – fração EtOAc

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	30	83,40±0,93	17,91±0,16
	25	65,29±0,46	
	20	54,91±0,44	
	15	42,60±0,82	
	10	30,59±0,26	

Piper obliquum – fração Acet

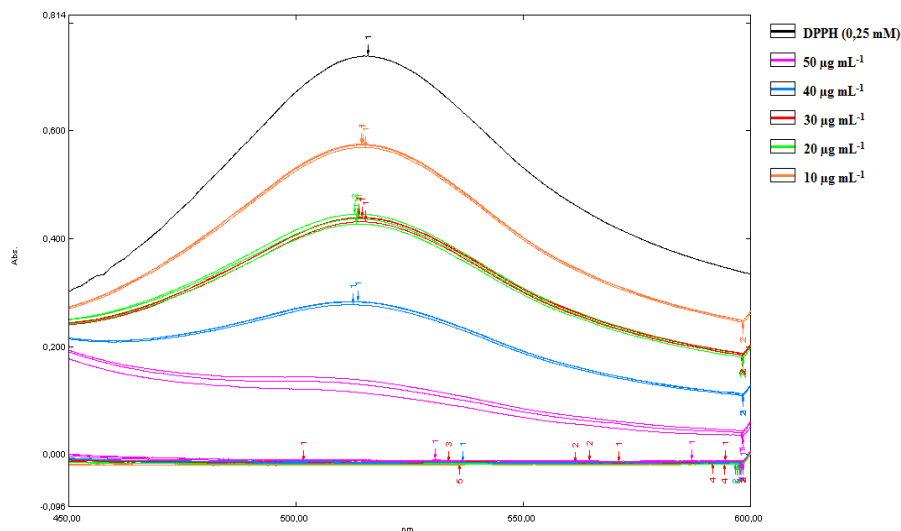


Figura 49: Espectro *Piper obliquum* – fração Acet

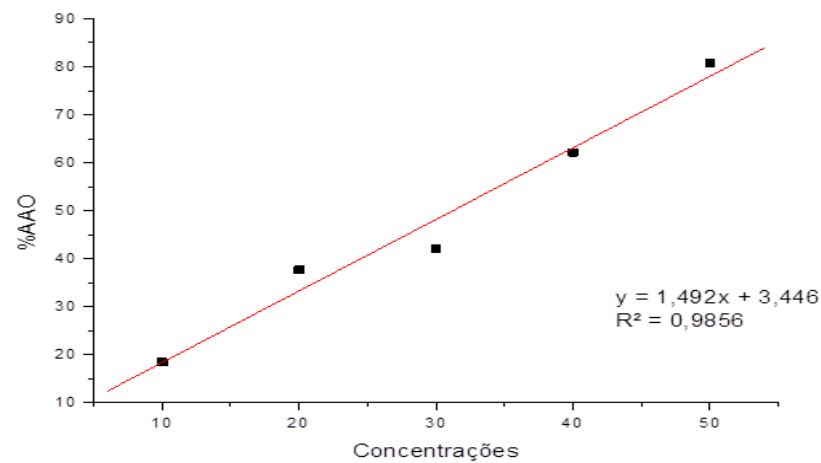


Figura 50: Regressão linear *Piper obliquum* – fração Acet

Tabela 18: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – fração Acet

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Acetona	50	80,79±1,71	31,21±0,38
	40	62,12±0,44	
	30	42,04±0,56	
	20	37,66±1,25	
	10	18,42±0,42	

***Piper obliquum* – fração MeOH**

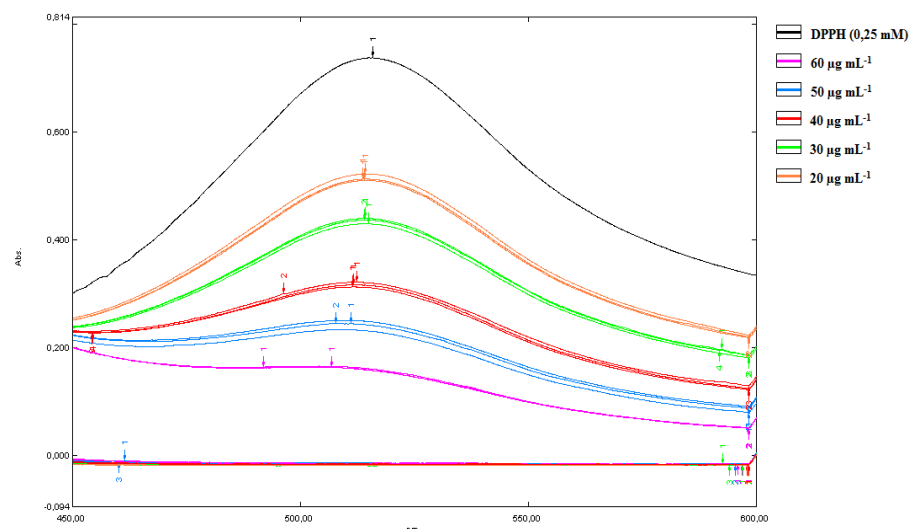


Figura 51: Espectro *Piper obliquum* – fração MeOH

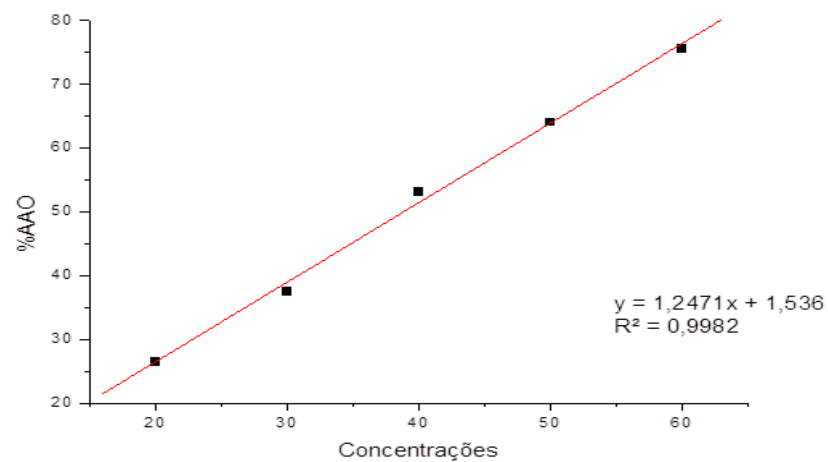


Figura 52: Regressão linear *Piper obliquum* – fração MeOH

Tabela 19: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Piper obliquum* – fração MeOH

<i>Piper obliquum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
MeOH	60	75,65±0,24	38,86±0,08
	50	64,12±1,30	
	40	53,19±0,64	
	30	37,57±0,71	
	20	26,57±0,94	

***Protium subserratum* – extrato EtOH**

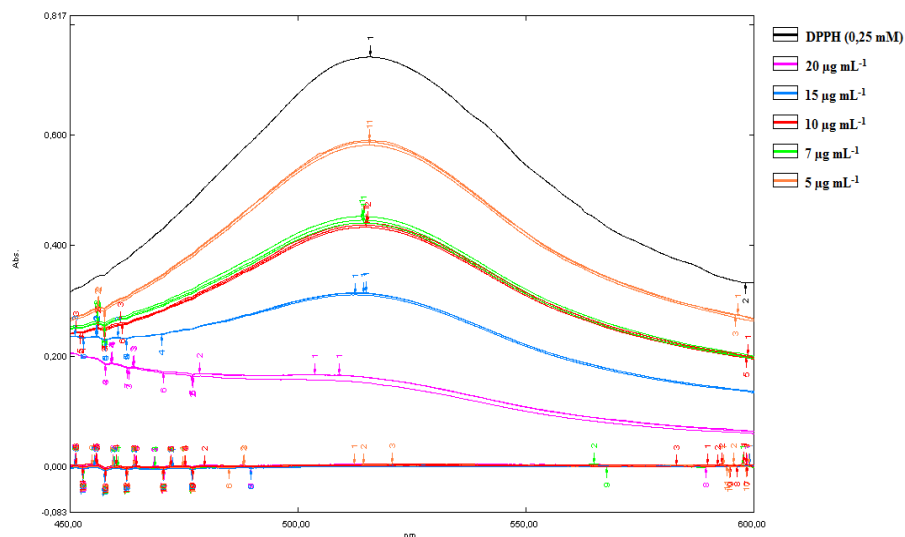


Figura 53: Espectro *Protium subserratum* – extrato EtOH

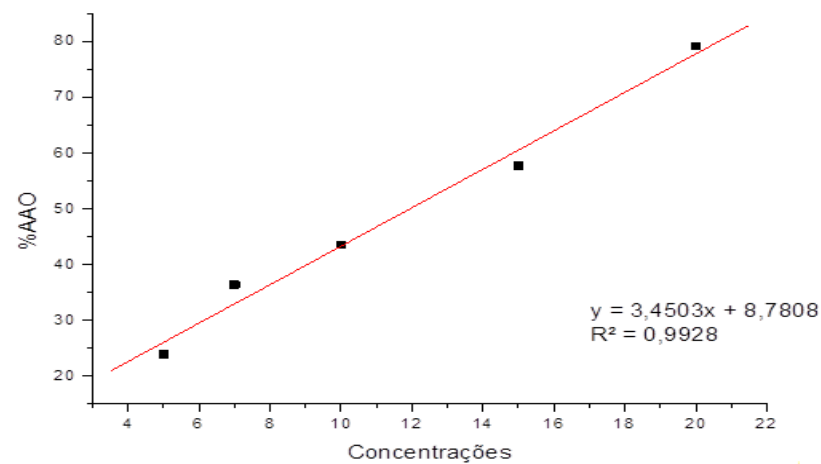


Figura 54: Regressão linear *Protium subserratum* – extrato EtOH

Tabela 20: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium subserratum* – extrato EtOH

<i>Protium subserratum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	20	79,11±0,75	8,96±0,11
	15	57,76±0,29	
	10	43,50±0,52	
	7	36,34±0,79	
	5	23,86±0,60	

***Protium subserratum* – fração CHCl₃**

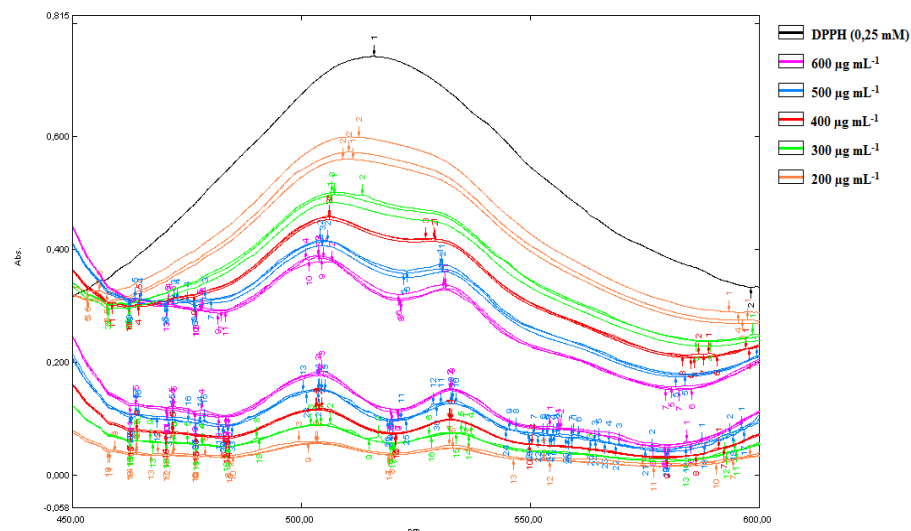


Figura 55: Espectro *Protium subserratum* – fração CHCl₃

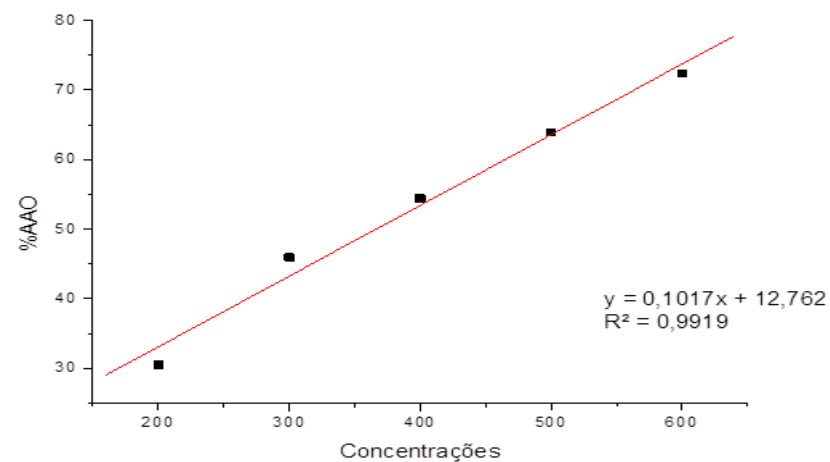


Figura 56: Regressão linear *Protium subserratum* – fração CHCl₃

Tabela 21: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium subserratum* – fração CHCl₃

<i>Protium subserratum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
CHCl ₃	600	72,35±0,70	366,03±7,07
	500	63,92±0,89	
	400	54,41±0,45	
	300	45,94±1,40	
	200	30,51±2,73	

Protium subserratum – fração EtOAc

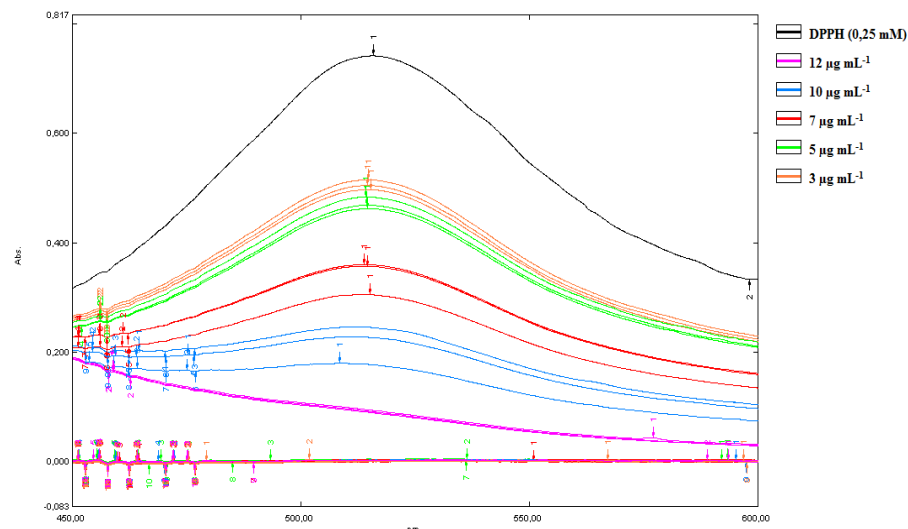


Figura 57: Espectro *Protium subserratum* – fração EtOAc

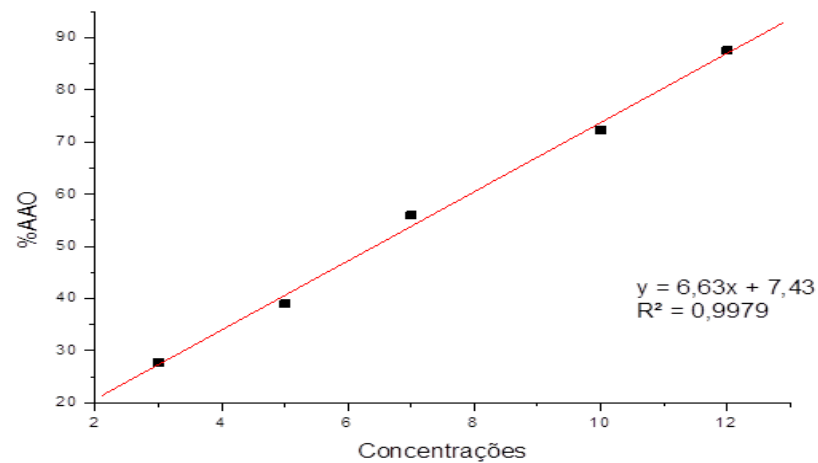


Figura 58: Regressão linear *Protium subserratum* – fração EtOAc

Tabela 22: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Protium subserratum* – fração EtOAc

<i>Protium subserratum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	12	87,53±0,36	6,42±0,20
	10	72,27±4,59	
	7	55,98±4,03	
	5	38,98±1,41	
	3	27,70±1,53	

Protium subserratum – fração Acet

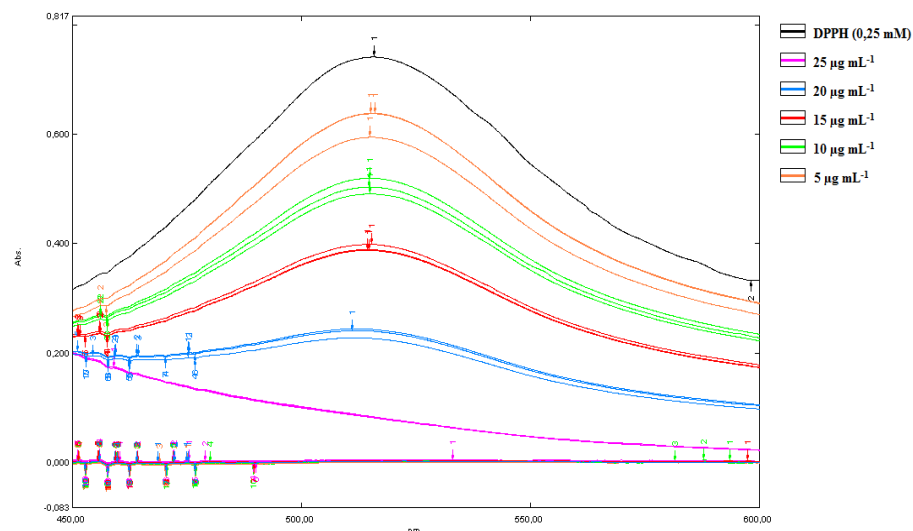


Figura 59: Espectro *Protium subserratum* – fração Acet

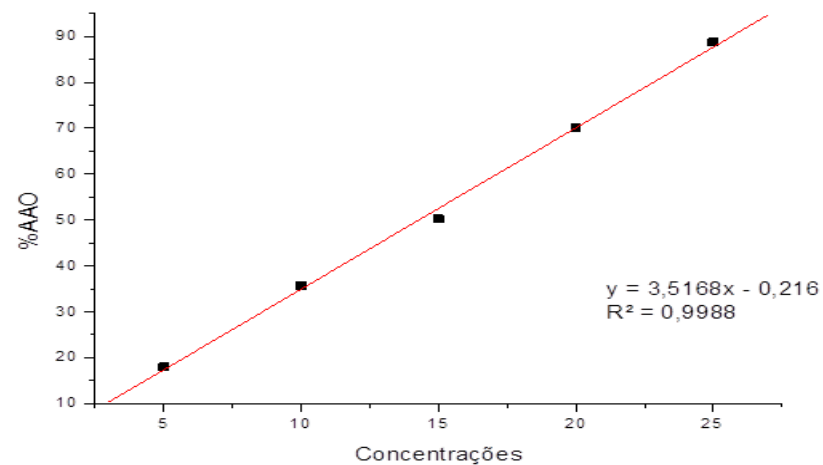


Figura 60: Regressão linear *Protium subserratum* – fração Acet

Tabela 23: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium subserratum* – fração Acet

<i>Protium subserratum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Acetona	25	88,73±0,08	14,28±0,21
	20	70,06±1,08	
	15	50,23±0,78	
	10	35,64±1,86	
	5	18,02±0,77	

***Protium subserratum* – fração MeOH**

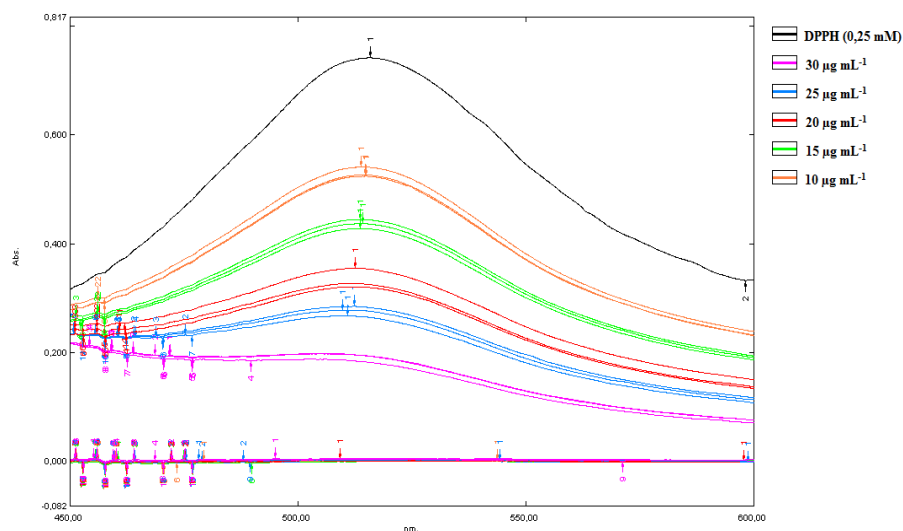


Figura 61: Espectro *Protium subserratum* – fração MeOH

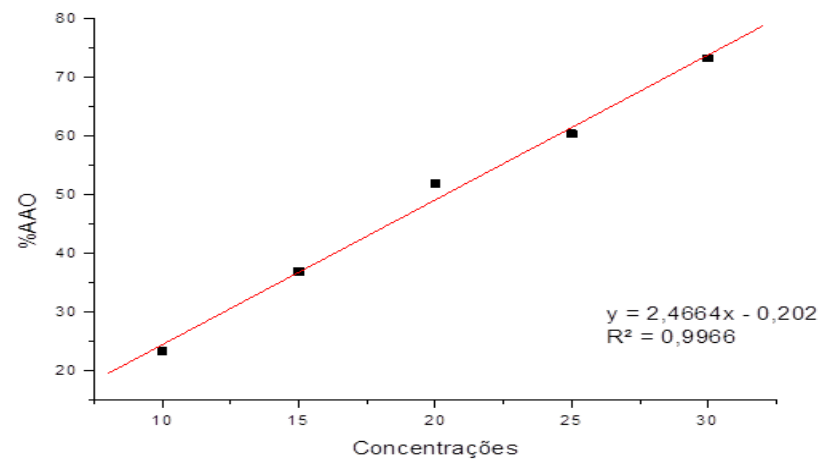


Figura 62: Regressão linear *Protium subserratum* – fração MeOH

Tabela 24: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Protium subserratum* – fração MeOH

<i>Protium subserratum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
MeOH	30	73,18±0,93	20,35±0,22
	25	60,40±1,34	
	20	51,89±2,59	
	15	36,88±1,24	
	10	23,28±1,32	

***Protium trifoliolatum* – extrato EtOH**

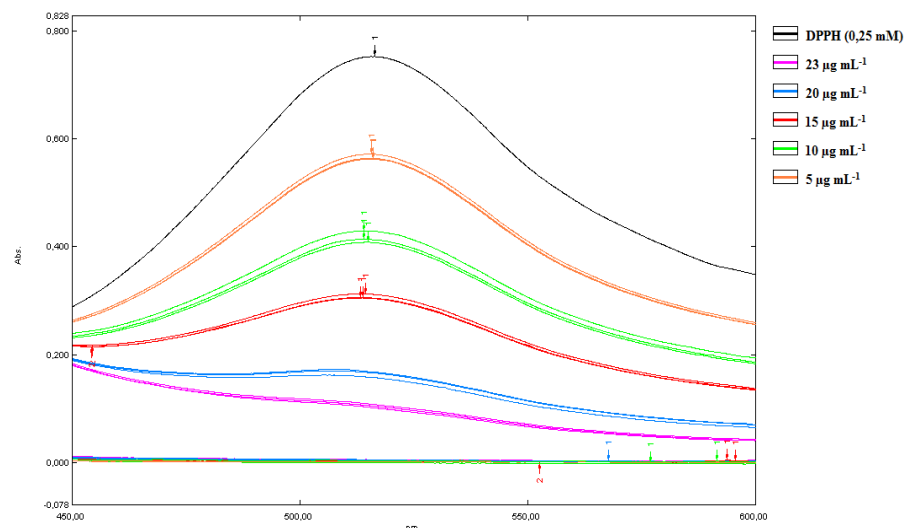


Figura 63: Espectro *Protium trifoliolatum* – extrato EtOH

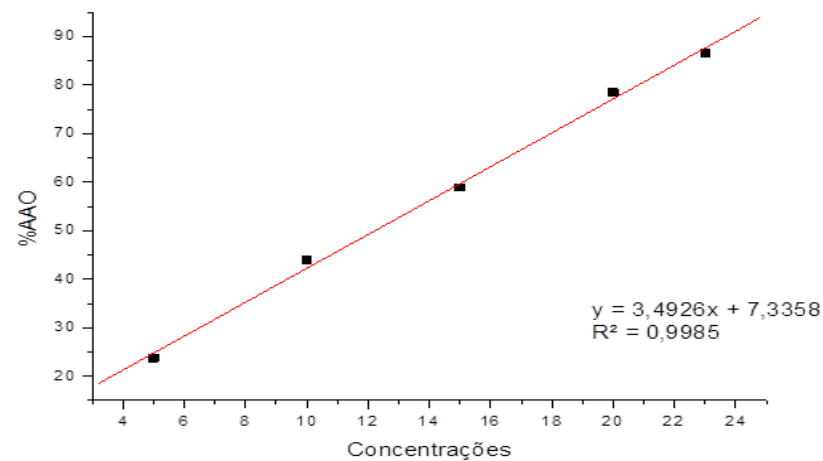


Figura 64: Regressão linear *Protium trifoliolatum* – extrato EtOH

Tabela 25: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Protium trifoliolatum* – extrato EtOH

<i>Protium trifoliolatum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOH	23	86,54±0,41	12,21±0,15
	20	78,50±0,71	
	15	58,94±0,59	
	10	43,95±1,48	
	5	23,71±0,64	

Protium trifoliolatum – fração CHCl₃

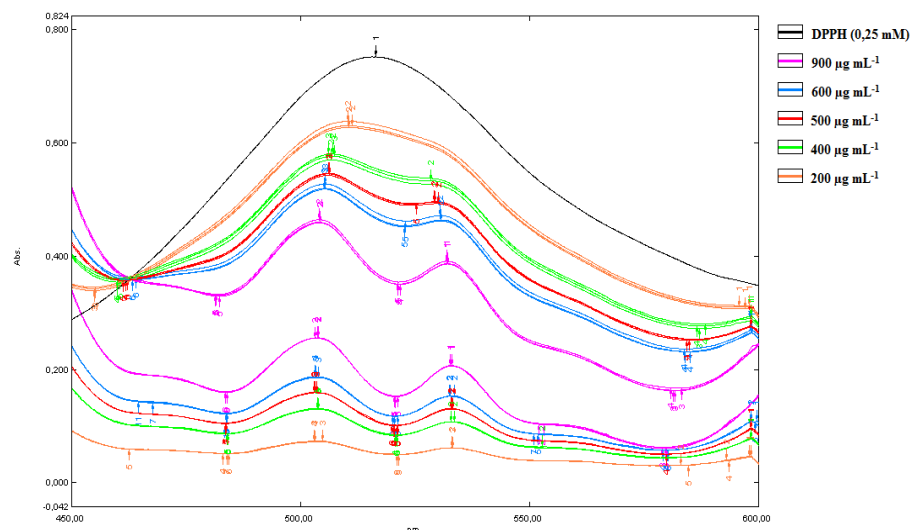


Figura 65: Espectro *Protium trifoliolatum* – fração CHCl₃

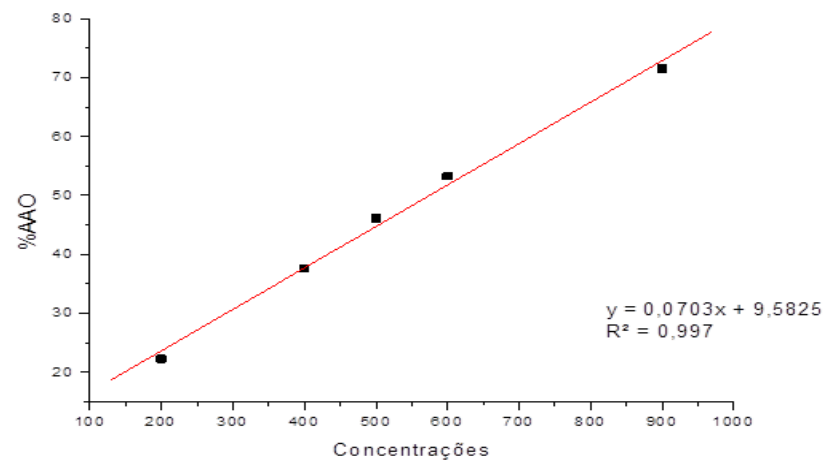


Figura 66: Regressão linear *Protium trifoliolatum* – fração CHCl₃

Tabela 26: Concentrações, % AAO e EC₅₀ da *Protium trifoliolatum* – fração CHCl₃

<i>Protium trifoliolatum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
CHCl ₃	900	71,46±0,37	574,62±2,68
	600	53,26±0,79	
	500	46,13±0,24	
	400	37,67±0,68	
	200	22,26±0,75	

***Protium trifoliolatum* – fração EtOAc**

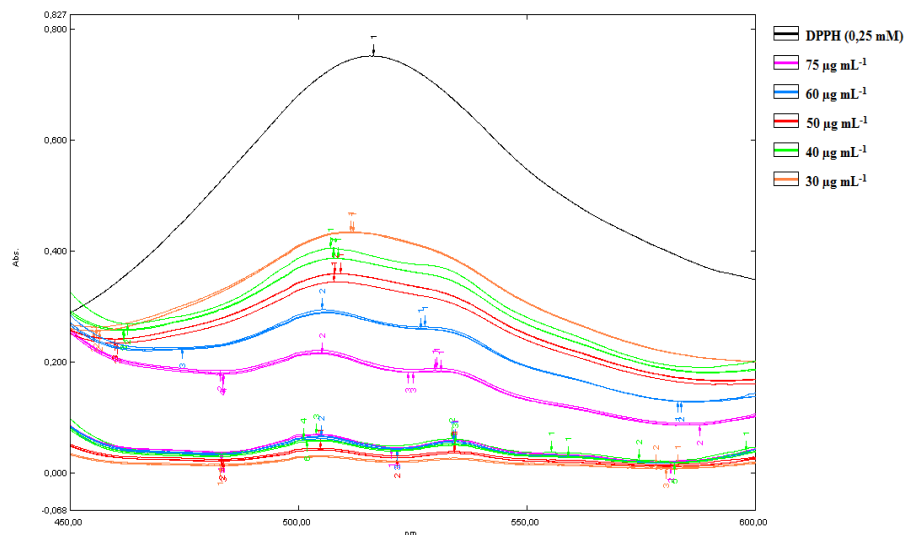


Figura 67: Espectro *Protium trifoliolatum* – fração EtOAc

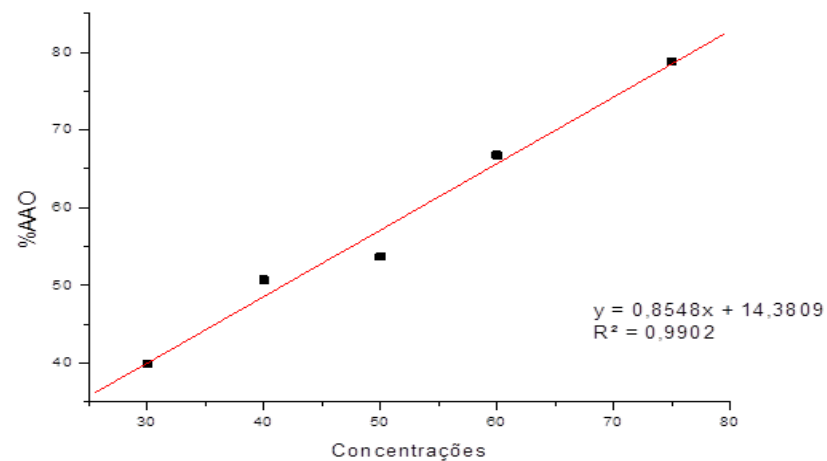


Figura 68: Regressão linear *Protium trifoliolatum* – fração EtOAc

Tabela 27: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium trifoliolatum* – fração EtOAc

<i>Protium trifoliolatum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
EtOAc	75	78,82±0,53	41,66±0,65
	60	66,76±0,22	
	50	53,68±1,28	
	40	50,73±1,19	
	30	39,90±0,09	

***Protium trifoliolatum* – fração Acet**

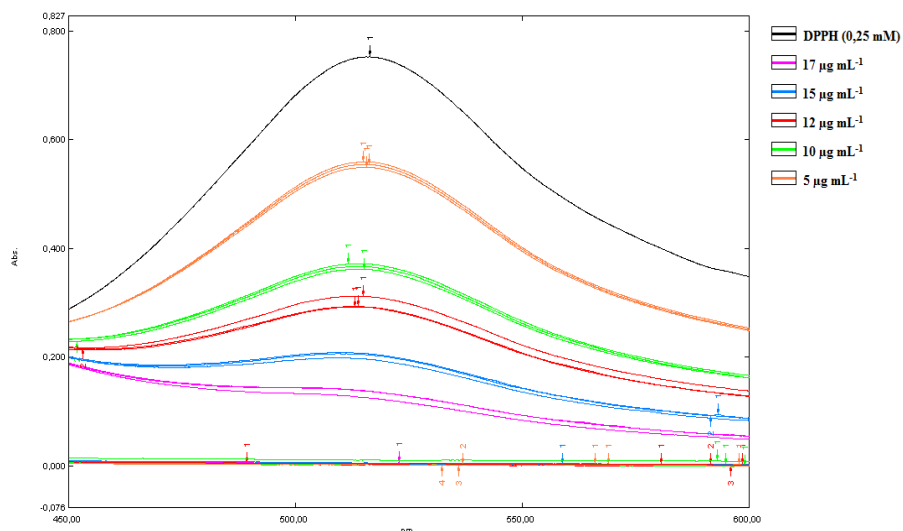


Figura 69: Espectro *Protium trifoliolatum* – fração Acet

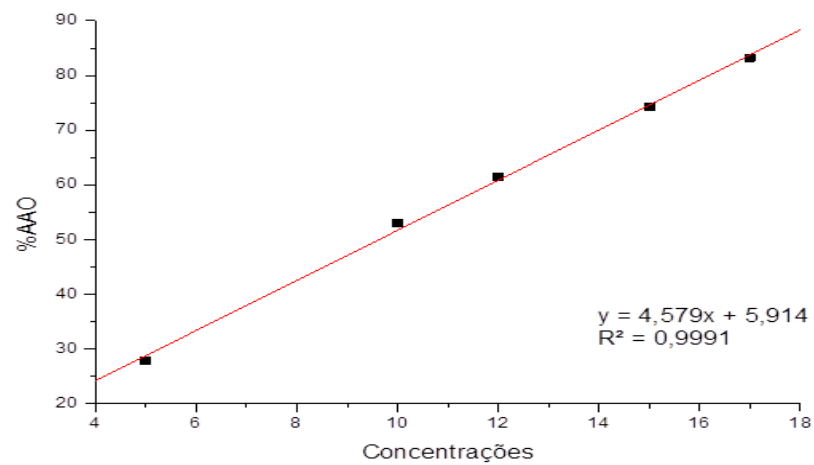


Figura 70: Regressão linear *Protium trifoliolatum* – fração Acet

Tabela 28: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium trifoliolatum* – fração Acet

<i>Protium trifoliolatum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
Acetona	17	83,22±0,98	9,63±0,09
	15	74,19±0,72	
	12	61,46±1,47	
	10	53,00±0,66	
	5	27,88±0,59	

***Protium trifoliolatum* – fração MeOH**

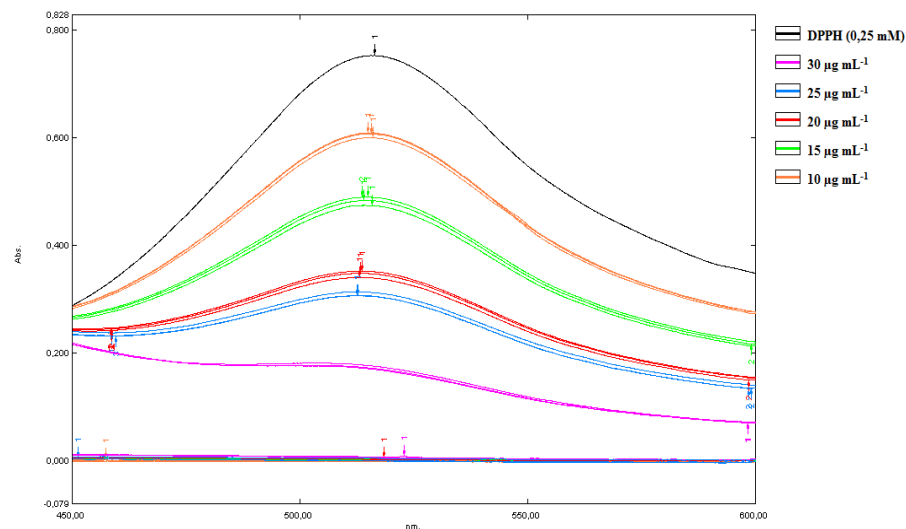


Figura 71: Espectro *Protium trifoliolatum* – fração MeOH

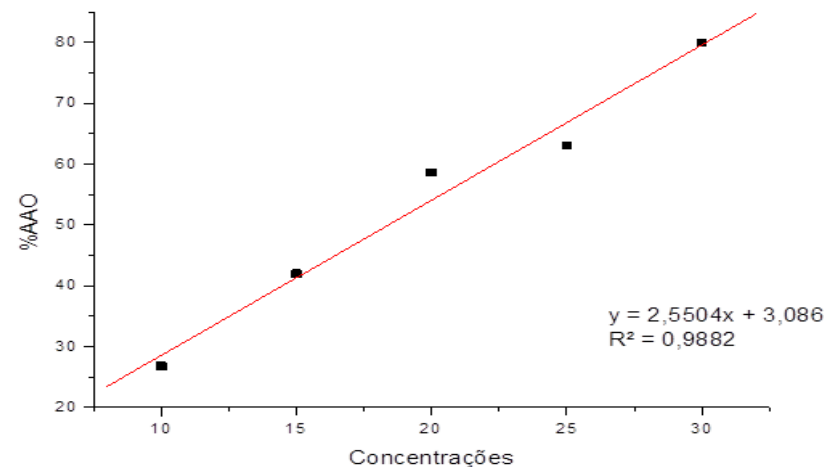


Figura 72: Regressão linear *Protium trifoliolatum* – fração MeOH

Tabela 29: Concentrações, %AAO e EC₅₀ da *Protium trifoliolatum* – fração MeOH

<i>Protium trifoliolatum</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
MeOH	30	80,01±0,37	18,39±0,22
	25	63,05±0,53	
	20	58,65±0,74	
	15	41,97±0,91	
	10	26,79±0,57	

Ginkgo biloba

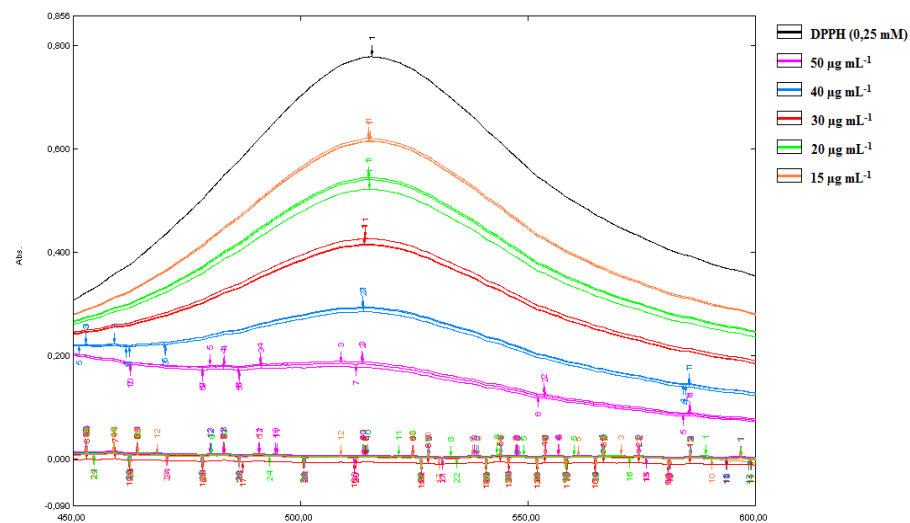


Figura 73: Espectro *Ginkgo biloba*

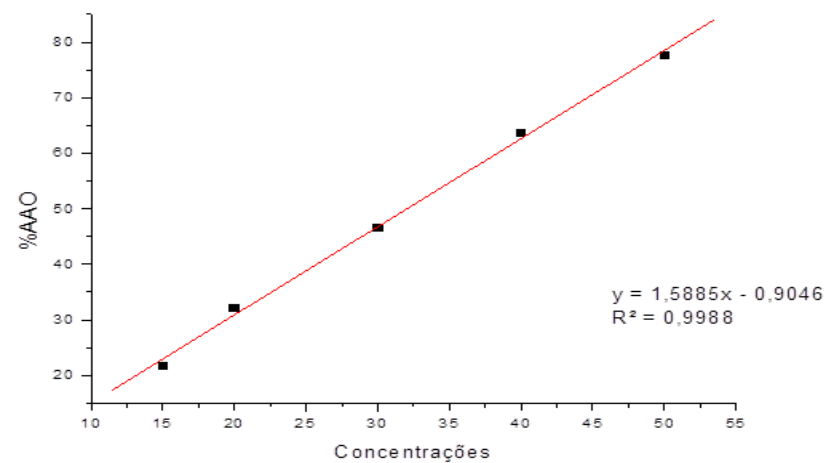


Figura 74: Regressão linear *Ginkgo biloba*

Tabela 30: Concentrações, % AAO e EC₅₀ do *Ginkgo biloba*

<i>Ginkgo biloba</i>	Concentrações (µg mL ⁻¹)	%AAO	EC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)
	50	77,68±0,64	
	40	63,69±0,61	
-	30	46,54±0,85	32,04±0,17
	20	32,13±1,57	
	15	21,66±0,44	