

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO GRANDE  
DO NORTE - CAMPUS APODI  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

JEAN CARLOS GAMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DA ÁRVORE SABIÁ (*Mimosa caesalpinifolia*) CULTIVADA NA FAZENDA  
ESCOLA DO IFRN – CAMPUS APODI**

APODI-RN

2019

JEAN CARLOS GAMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DA ÁRVORE SABIÁ (*Mimosa caesalpinifolia*) CULTIVADA NA FAZENDA  
ESCOLA DO IFRN – CAMPUS APODI**

Monografia apresentada ao Curso Superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Alcântara Alves  
Co-Orientadora: Profa. Dra. Luciana Medeiros Bertini

APODI-RN  
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

O48a Oliveira, Jean Carlos Gama de

Avaliação do teor de fenóis totais e atividade antioxidante da árvore sabiá (*mimosa caesalpiniiifolia*) cultivada na fazenda escola do IFRN – Campus Apodi / Jean Carlos Gama de Oliveira - Apodi, 2019.

54 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Alcântara Alves.

Trabalho de conclusão de curso (Superior). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Campus Apodi - Curso Superior de Licenciatura em Química, Apodi, 2019.

1. Planta medicinal. 2. *Mimosa caesalpiniiifolia*. 3. Composto fenólico. 4. Atividade antioxidante. I. Alves, Leonardo Alcântara (orient). II. Título.

IFRN

66 CDU

Elaborado por Itala Moreira Alves – CRB 1/2272

JEAN CARLOS GAMA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
DA ÁRVORE SABIÁ (*Mimosa caesalpinifolia*) CULTIVADA NA FAZENDA  
ESCOLA DO IFRN – CAMPUS APODI**

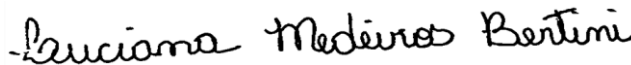
Monografia apresentada ao Curso Superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Monografia apresentada e aprovada em 18 / 12 / 2019, pela seguinte banca examinadora:

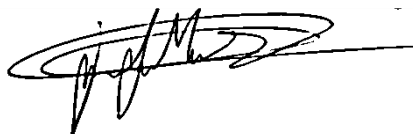
BANCA EXAMINADORA



Leonardo Alcântara Alves, Dr. – Presidente  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte



Luciana Medeiros Bertini, Dr.a. – Examinadora  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte



Francisco Felipe Maia Da Silva, Dr. – Examinador  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Às pessoas imprescindíveis nessa jornada:  
meus pais, Maria do Socorro e Manoel. Às  
minhas irmãs, Jéssica e Jessiane e ao meu  
sobrinho Gabriel, dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, primeiramente, por tudo que me foi proporcionado.

Aos meus queridos pais, Maria do Socorro e Manoel, por todo o apoio e suporte, e por não me deixarem desanimar nunca.

Às minhas irmãs, Jéssica e Jessiane, por sempre me fazer sentir importante, comemorando cada conquista mais do que eu mesmo.

Aos meus melhores amigos, Lucas e Matheus, parceiros de curso e de laboratório, que estão comigo desde a infância.

À minha namorada, Eduarda, pelo apoio constante e por me ajudar no acabamento do trabalho.

Aos parceiros de Laboratório Luma e Daniel, que tiveram participação ativa nos experimentos realizados.

Ao meu amigo José e seus pais, Seu Francisco e dona Maria do Céu, que me acolheram em sua casa quando eu passava por dificuldade para ir às aulas.

Ao meu orientador, professor Leonardo Alcântara, que teve papel fundamental em toda a minha graduação, e me proporcionou um período de grande aprendizado na área da pesquisa.

À minha co-orientadora, Professora Luciana Bertini, pelos ensinamentos e contribuições para a realização deste trabalho.

Ao corpo de professores do IFRN – Campus Apodi, em geral, por serem os melhores.

Ao IFRN – Campus Apodi por me proporcionar a tão sonhada graduação.

“O trabalho duro vence o dom natural.”

(Rock Lee)

## RESUMO

O uso de plantas medicinais para tratamento de problemas de saúde decorre desde a antiguidade e continua bastante atual. Com o passar do tempo e o avanço da tecnologia, se tornou mais fácil a identificação e a possibilidade de isolamento das substâncias responsáveis pela atividade fitoterápica. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da espécie *Mimosa caesalpinifolia*, conhecida popularmente como sabiá. Este trabalho foi motivado pelos registros de uso das suas cascas na medicina caseira como um bom tratamento para a bronquite, além de apresentarem aspecto cicatrizante, e outras enfermidades. Os extratos foram obtidos através de imersão em três solventes com diferentes polaridades (hexano, etanol e água), sendo posteriormente submetidos a testes que mostrassem evidências da presença de compostos com atividade antioxidante. A quantificação de fenóis totais foi feita pela reação dos extratos com reagente de Folin-ciocalteu em meio básico, enquanto a determinação da atividade antioxidante utilizou 2 métodos distintos: o primeiro consistiu na inibição da atividade do radical DPPH pela ação do extrato e no segundo foi utilizada a metodologia do cátion radical ABTS<sup>•+</sup>. O melhor rendimento percentual na obtenção do extrato bruto foi observado em geral nos extratos aquosos, com destaque para o extrato aquoso das folhas com 11,24%. Em relação ao teor de fenóis totais, o melhor resultado foi referente ao extrato etanólico dos galhos, que apresentou valor igual a 33,64 mgEAG/g extrato, o que é considerado um valor baixo quando comparadas a outras plantas com propriedades medicinais. Apesar disso, os testes antioxidantes mostraram ótimos resultados para ambas as metodologias. O ensaio da reação com DPPH destaca novamente o extrato etanólico dos galhos, com valor de CI<sub>50</sub> (concentração inibitória de 50% do radical) igual a 7,08 mg/L e em seguida, o extrato aquoso das cascas com 9,38 mg/L. com exceção dos extratos hexânicos, todos apresentaram atividade próxima aos padrões positivos utilizados (vitamina C: 43 mg/L e Trolox: 4 mg/L). Quanto ao ensaio com ABTS<sup>•+</sup>, os extratos aquosos dos galhos e etanólicos dos galhos (2658,57 81 µmol/Ltrolox /g) e das cascas (2314,81 81 µmol/Ltrolox /g) mostraram os melhores resultados. Além disso, foi possível observar também certa relação entre a concentração de fenóis dos extratos e a atividade antioxidante total (ABTS<sup>•+</sup>).

Palavras-Chave: Plantas medicinais. *Mimosa caesalpinifolia*. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante.



## ABSTRACT

The use of medicinal plants to treat health problems has been going on since ancient times and remains very current. With the passage of time and the advancement of technology, the identification and the possibility of isolation of the substances responsible for phytotherapeutic activity became easier. Thus, the objective of the present work was to evaluate the content of phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of the species *Mimosa caesalpinifolia*, popularly known as thrush. This work was motivated by the records of the use of their peels in home medicine as a good treatment for bronchitis, in addition to presenting a healing aspect, and other diseases. The extracts were obtained by immersion in three solvents with different polarities (hexane, ethanol and water), being subsequently subjected to tests that showed evidence of the presence of compounds with antioxidant activity. The quantification of total phenols was done by the reaction of the extracts with Folin-ciocalteu reagent in a basic medium, while the determination of antioxidant activity used 2 different methods: the first consisted of inhibiting the DPPH radical activity by the action of the extract and the second was the ABTS<sup>•+</sup> radical cation methodology was used. The best percentage yield in obtaining the crude extract was observed in general in aqueous extracts, with emphasis on the aqueous extract of the leaves with 11.24%. Regarding the total phenol content, the best result was related to the ethanolic extract of the branches, which presented a value equal to 33.64 mgEAG/g extract, which is considered a low value when compared to other plants with medicinal properties. Despite this, the antioxidant tests showed excellent results for both methodologies. The DPPH reaction test again highlights the ethanolic extract of the branches, with an IC<sub>50</sub> value (inhibitory concentration of 50% of the radical) equal to 7.08 mg/L and then the aqueous extract of the barks with 9.38 mg/L. with the exception of hexane extracts, all showed activity close to the positive standards used (vitamin C: 43 mg/L and Trolox: 4 mg/L). As for the test with ABTS<sup>•+</sup>, the aqueous extracts of the branches and ethanolic of the branches (2658,57 μmol/L trolox/g) and the barks (2314,81 μmol/L trolox/g) showed the best results. In addition, it was also possible to observe a certain relationship between the concentration of phenols in the extracts and the total antioxidant activity (ABTS<sup>•+</sup>).

Keywords: Medicinal plants. *Mimosa caesalpinifolia*. Phenolic compounds. Antioxidant activity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ocorrência e distribuição da <i>Mimosa caesalpinifolia</i> no Brasil	17
Figura 2 - Árvore de sabiá	18
Figura 3 - Alguns antioxidantes sintéticos	20
Figura 4 - Estruturas químicas das vitaminas C e E	21
Figura 5 - Estrutura básica de um fenol	22
Figura 6 - Exemplo de polifenóis: Catequinas	22
Figura 7 - Exemplos de ácidos fenólicos: (A) ácido hidrocínâmico e (B) ácido hidroxibenzóico	22
Figura 8 - Reação de ácido gálico com o complexo fosfomolibdico do reagente de Folin-Ciocalteu	24
Figura 9 – Estrutura do radical DPPH	24
Figura 10 - Reação entre o radical livre DPPH e espécie antioxidante	25
Figura 11 - Formação do cátion radical ABTS <sup>•+</sup> pela reação com K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	26
Figura 12 - Figura 12: Material vegetal após a coleta: (A) Folhas, (B) galhos e (C) cascas da Sabiá.	30
Figura 13: Recipientes utilizados para extração	30
Figura 14: Extratos após evaporação do solvente	31
Figura 15: Rendimentos percentuais dos extratos	32
Figura 16: Curva de calibração padrão de ácido gálico	33
Figura 17: Diluições realizadas para teste de captura do DPPH	34
Figura 18: Reação do ABTS <sup>•+</sup> com diluições diferentes do extrato etanólico das folhas do Sabiá	37
Figura 19: Curva de calibração padrão de Trolox	37
Figura 20: Correlação Fenóis Totais x DPPH	39
Figura 21: Correlação Fenóis Totais x ABTS	39
Figura 22: Correlação Método DPPH x ABTS	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas árvores comuns do nordeste brasileiro utilizadas na medicina popular	15-16
Tabela 2: Massas totais de vegetal utilizadas na obtenção dos extratos	31
Tabela 3: Massas de extrato bruto obtidos em diferentes solventes	31
Tabela 4: Teor de fenóis totais dos extratos	33
Tabela 5: % inibição para diferentes diluições dos extratos	35
Tabela 6: Valores de $CI_{50}$	36
Tabela 7: Atividade antioxidante dos extratos em função do trolox pelo método ABTS <sup>+</sup>	38

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	13
2.1	PRODUTOS NATURAIS.....	13
2.2	PLANTAS MEDICINAIS.....	13
2.3	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS: <i>MIMOSA CAESALPINIIFOLIA</i> .....	16
2.4	RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	19
2.5	COMPOSTOS FENÓLICOS .....	21
2.6	FUNDAMENTO DOS MÉTODOS: FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	23
2.6.1	Fenóis totais: Folin-Ciocalteu .....	23
2.6.2	Antioxidantes: Radical DPPH.....	24
2.6.3	Antioxidantes: Radical ABTS .....	26
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	27
3.1	COLETA DO MATERIAL E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS .....	27
3.2	QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS .....	27
3.3	AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	28
3.3.1	Método de captura do radical DPPH.....	28
3.3.2	Método de captura do radical ABTS .....	28
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	30
4.1	OBTENÇÃO E RENDIMENTO DOS EXTRATOS.....	30
4.2	FENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU.....	32
4.3	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: DPPH.....	34
4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: ABTS.....	36
4.5	CORRELAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	38
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	41
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	42
	<b>APÊNDICES</b> .....	47

## 1 INTRODUÇÃO

O mercado farmacêutico é certamente um dos mais lucrativos em todo o mundo, e continua em expansão. O crescimento desse mercado é tão evidente, que, apesar da crise e com vendas estimadas em US\$ 33,1 bilhões em 2017 o Brasil subiu duas posições no ranking global, tornando-se o sexto maior mercado farmacêutico do mundo, atrás dos Estados Unidos, China, Japão, Alemanha e da França (BRASIL, 2018).

Inserido no ramo farmacêutico, vale ressaltar a utilização cada vez mais recorrente de fitoterápicos. Apesar de a utilização de plantas com fins medicinais - para tratamento, cura e prevenção de doenças – ser uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade, esta continua sendo a base de um tema bastante recorrente ainda nos dias atuais (BANDEIRA, 2015).

Em áreas da química, como a fitoquímica e a química verde por exemplo, o uso de produtos naturais vem se destacando cada vez mais por se apresentarem como uma alternativa promissora aos produtos sintéticos que, em alguns casos, apresentam prejudicialidade à saúde e/ou ao meio ambiente, além de custos mais elevados.

Alguns motivos pontuais corroboram para que o Brasil seja um dos países mais propensos ao investimento na pesquisa em produtos naturais. Por sua grande área territorial e climas diversos em cada região do país, o Brasil detém uma das maiores diversidades do mundo quando se trata da sua flora. Essa diversidade permite que se obtenha um grande “leque” de opções, refletindo uma boa viabilidade quanto a estudos na área de atividades fitoquímicas. Segundo Brasil (2012), no país, o número de espécies de plantas ultrapassa os 55.000, o que compreende quase 22% da flora mundial.

Apesar disso, ainda não se explora todo o potencial possível com relação a esses estudos. As dificuldades envolvem os altos custos de pesquisa e inovação, além da rigorosidade cada vez maior na exigência de documentação e testes clínicos impostas pelas agências regulatórias (PINHEIRO JUNIOR; GADELHA; CASTRO, 2013).

Nesta linha de discussão, a espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* faz parte da rica diversidade da flora brasileira. Apesar de seu uso amplamente difundido no país como estacas para cercas, quebra-ventos, cercas-vivas ou até lenha para queima, o sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*) apresenta também propriedades farmacêuticas. De acordo com Carvalho (2007), a partir de estudos realizados com as cascas da planta, foi observado que estas apresentam grande riqueza em compostos polifenólicos.

Com base nesses dados, o presente trabalho, objetivou avaliar o teor de fenóis totais

pelo método do reagente de Folin-Ciocalteu de extratos hexânicos, etanólicos e aquosos. Foram utilizadas as folhas, os galhos e as cascas do tronco da árvore de sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*), obtida na fazenda-escola do IFRN – Campus Apodi. Além disso, buscou-se também o aprofundamento nos estudos da atividade antioxidante do material vegetal, utilizando 2 métodos distintos: a captura dos radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e do 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina)6-ácido sulfônico (ABTS).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 PRODUTOS NATURAIS

O uso dos produtos naturais iniciou-se há milhares de anos por várias populações, com a finalidade de tratar diversas doenças e patologias. Há relatos, por exemplo, do uso de plantas com finalidades terapêuticas na China já por volta de 3.000 a.C. (RICARDO, 2011).

No Brasil, as plantas medicinais e extratos já eram usados pelos índios desde a época da colonização. A falta de conhecimento da população em geral sobre as propriedades desses produtos fez com que houvesse grande importações de remédios, vindos principalmente da Europa. Passaram-se muitos anos até que o conhecimento sobre as plantas medicinais brasileiras tomasse proporções mundiais (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012).

Na década de 1960, entretanto, houve um certo “desinteresse” por parte de institutos de pesquisa e indústria farmacêutica pois se acreditava que os compostos naturais ativos mais importantes já haviam sido descobertos. O interesse voltou a emergir a partir dos anos 80, quando o avanço da tecnologia permitiu que esses compostos fossem mais facilmente isolados, e uma maior rapidez na identificação destes a partir de extratos vegetais, por exemplo (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Até hoje as pesquisas no ramo da química dos produtos naturais (QPN) são bastante favorecidas no Brasil: o país possui uma mega biodiversidade, com climas e biomas diferentes. Isso permite que muitas espécies vegetais sejam exclusivas do território brasileiro, e devido à sua complexidade, nem toda essa biodiversidade é sequer conhecida (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

Uma das maiores fontes de produtos naturais no Brasil diz respeito aos vegetais. A utilização de plantas medicinais é bastante recorrente, visto que, como afirma Forzza *et al.* (2010) o país detém entre 16 e 20% da flora de todo o planeta. Entretanto, o conhecimento sobre as espécies não é tão vasto quanto poderia, ou seja, o potencial das espécies com propriedades bioativas não é ainda explorado ao máximo.

O estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura das doenças, em suas diferentes formas de apresentação farmacêutica é conhecido como fitoterapia. Além de serem utilizados diretamente das plantas, é possível extrair os componentes ativos presentes em partes das plantas para a fabricação de fármacos (BRITO *et al.*, 2014).

### 2.2 PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas medicinais é certamente uma das formas de tratamento e cura de

doenças mais antigas utilizadas pelo homem, perdurando até os dias atuais na medicina popular devido à tradição familiar, que faz com que esses ensinamentos passem geração após geração. As plantas medicinais podem ser definidas como todo e qualquer vegetal que possui substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de substâncias que possam ser utilizadas para esse propósito (PEREIRA *et al.*, 2015).

Com o seu uso bastante difundido, as plantas medicinais ganharam bastante popularidade nos últimos anos. De acordo com Brasileiro *et al.* (2008), fatores diversos contribuíram para o aumento da utilização de plantas medicinais, entre eles: o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica, bem como a tendência cada vez maior ao uso de produtos de origem natural.

Porém, as plantas medicinais desempenham papel muito importante também na medicina moderna. Turolla; Nascimento (2006) destaca alguns motivos:

- Elas podem fornecer fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química;
- As fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os mais eficazes ou menos tóxicos;
- Os produtos naturais podem ser utilizados como protótipos para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes à dos compostos originais.

Como já citado anteriormente, o Brasil detém grande diversidade de flora, principalmente por causa dos climas variados apresentados por cada região. Levando em destaque a região nordeste do país, a caatinga aparece com grande importância, pois é um bioma exclusivamente brasileiro, possuindo espécies vegetais só observadas nesse tipo de vegetação (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010).

Em pesquisa realizada no município de Caicó – estado do Rio Grande do Norte – que fica a 118 Km de Apodi e 220 da capital Natal, foram listadas diversas espécies utilizadas na medicina popular pelos habitantes. Algumas delas podem ser observadas na Tabela 1 abaixo.



Tabela 1: Algumas árvores comuns do nordeste brasileiro utilizadas na medicina popular

<b>Nome vulgar</b>	<b>Nome científico</b>	<b>Tipo</b>	<b>Tratamentos</b>
Favela	<i>Cnidoscolus quercifolius</i> Pohl	Árvore	Dor de dente, Ferimentos
Mastruz	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Erva	Úlcera, Gastrite, Gripe
Aroeira	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Árvore	Câncer, inflamação, doença renal
Pereiro	<i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.	Árvore	Abortivo
Carnaúba	<i>Copernicia cerifera</i> (Arruda) Mart.	Árvore	Inflamação na uretra
Oiticica	<i>Licania rigida</i> Benth	Árvore	Doença nos rins, emagrecer
Cumaru	<i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm.	Árvore	Sinusite, tosse, prisão de ventre
Jurema-Preta	<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	Árvore	Inflamação, dor de barriga
Quixabeira	<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Humb. ex Roem. & Schult.) T.D.Penn.	Árvore	Dor, pancada, inflamação
Juazeiro	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	Árvore	Verminose, higiene bucal, caspa
Jucá	<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Árvore	Cicatrizante, inflamação
Macela	<i>Egletes viscosa</i> (L.) Less.	Erva	Má digestão
Pau-d'arco roxo	<i>Tabebuia impetiginosa</i> (Mart. ex DC.) Standl.	Árvore	Câncer, ferimento

Mandacaru	<i>Cereus jamacaru</i> DC.	Arbusto	Úlcera, fraturas
Xique-xique	<i>Pilosocereus gounellei</i> (F.A.C. Weber) Byles.	Arbusto	Inflamação na uretra
Mofumbo	<i>Combretum leprosum</i> Mart.	Arbusto	Dor de barriga
Urtiga	<i>Cnidocolus urens</i> (L.) Arthur	Subarbusto	Apendicite, inflamação na próstata
Velame	<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth.	Arbusto	Dor de coluna

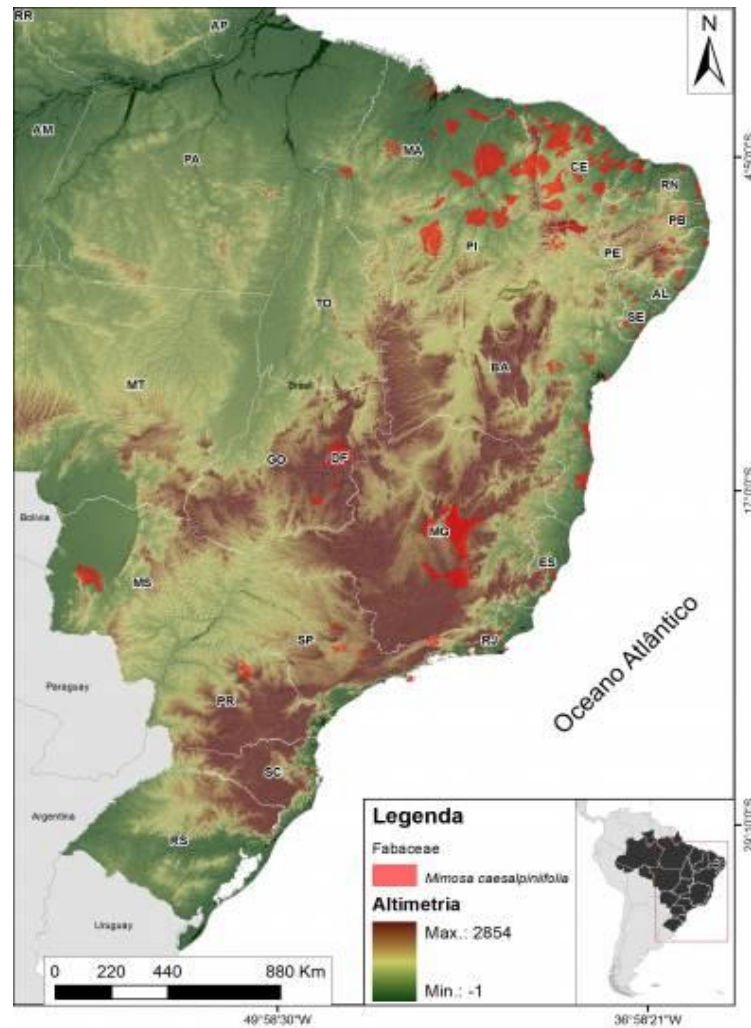
Fonte: Adaptado de ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010.

Apesar de ser não receber tanto destaque na literatura quanto outras plantas medicinais, há registros de que o sabiá (*Mimosa Caesalpiniiolia*) também apresenta propriedades farmacológicas bastante importantes.

### 2.3 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS: *Mimosa caesalpiniiifolia*

O sabiá (*Mimosa caesalpiniiifolia*) é uma planta nativa da região Nordeste do Brasil e pertence à família Fabaceae, sendo conhecida também como unha-de-gato em alguns estados. A espécie apresenta ocorrência natural nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe, além de distribuição para outras regiões do Brasil (CNCFLORA, 2012), como mostra a Figura 1.

Figura 1: Ocorrência e distribuição da *Mimosa caesalpinifolia* no Brasil



Fonte: CNCFLORA, 2012.

É considerada uma árvore de pequeno à médio porte (Figura 2), que em fase adulta pode atingir até 8 metros de altura, e cerca de 20 cm de diâmetro à altura do peito. Seu tronco apresenta acúleos que vão desaparecendo conforme a árvore envelhece, diferentemente dos ramos, que mantém essa característica (DRUMOND, 2010).

Essa espécie apresenta crescimento cespitoso, ou seja, de um único ponto na base da planta surgem vários troncos, formando touceiras. Caracteriza-se, também, como uma planta pioneira, caducifólia, heliófita, e que apresenta ocorrência preferencialmente em solos profundos, tanto em formações primárias quanto secundárias (DRUMOND, 2010; LORENZI, 2000). É possível observar a árvore na Figura 2 abaixo.

Figura 2: Árvore de sabiá



Fonte: DRUMOND, 2010.

Além de heliófita, ou seja, é uma planta que necessita de total exposição solar, o sabiá também é conhecido por não tolerar temperaturas baixas. Dessa forma, é facilmente compreensível que a espécie seja nativa da região Nordeste, além de se desenvolver muito bem em clima semi-árido (CARVALHO, 2007).

Sua madeira possui grande valor econômico pois apresenta alto poder calorífico e resistência físico-mecânica. Por esse motivo, tem sido amplamente utilizada como alternativa energética e, principalmente, para a produção de estacas em todo o Nordeste brasileiro. Além disso, apresenta alta acessibilidade por parte de caprinos e ovinos, sendo utilizada também como forrageira (MOURA *et al*, 2006).

A *M. caesalpinhiifolia* é ainda amplamente explorada como fonte de madeira na produção de mourões de cerca, lenha e carvão, podendo ser estabelecida para formação de cerca-viva ou em pastos arbóreos. A espécie apresenta também grande potencial para o reflorestamento em áreas de solos tropicais degradados (MELO *et al*, 2018).

Apesar de escassa, a utilização da planta para fins terapêuticos é relatada, segundo Carvalho (2007) como uso, principalmente, na medicina caseira. A infusão de suas cascas é utilizada como um tônico que ajuda no tratamento da bronquite, enquanto o cozimento das cascas possibilita o seu uso externo no estancamento de sangramentos e lavagem de ferimentos, o que remete à ação cicatrizante.

De acordo com estudos realizados no Laboratório de Química da Madeira do Departamento de Produtos Florestais, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), a madeira dessa espécie apresenta grande riqueza em compostos polifenólicos, apresentando 3,5% de tanino condensável e 8 % de rendimento em taninos na madeira

(CARVALHO, 2007)

Há ainda indícios de que o sabiá possua grandes utilidades do ponto de vista ecológico podendo ser utilizado na fitorremediação, prática que consiste na utilização de plantas para purificação de ambientes terrestres ou aquáticos contaminados com substâncias inorgânicas. Por isso, é importante o desenvolvimento de estratégias de preservação e uso racional dos seus recursos (AVELINO *et al.*, 2018).

#### 2.4 RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES

Os radicais livres podem ser átomos ou moléculas, orgânicas ou ainda inorgânicas, possuindo pelo menos um elétron desemparelhado em seus orbitais externos, e mesmo assim possuem existência independente. Agem como doadores ou aceptores de elétrons, promovendo modificações nas espécies químicas ao seu redor. Abaixo, estão listados alguns radicais livres comuns:

HOH· radical peroxil

O<sub>2</sub>·<sup>-</sup> radical superóxido

OH· radical hidroxila

NO· óxido nítrico

O<sub>2</sub> oxigênio dirradicalar (MARTELLI; NUNES, 2014).

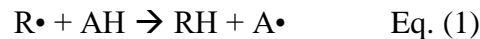
A geração de radicais livres faz parte de um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes. Sua geração pode ocorrer por meio de fontes endógenas, como inflamação e respiração aeróbica, ou por meio de fontes exógenas, como radiação ultravioleta, medicamentos e tabagismo (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT, 2009).

Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas que ocorrem. Quando produzidos em quantidades adequadas, possibilitam a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons; fertilização do óvulo; ativação de genes; e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção (BARBOSA *et al.*, 2010).

Porém, se produzidos em quantidade exagerada, podem causar danos, pois são altamente instáveis, o que faz com que essas espécies químicas sejam bastante reativas. Por esse motivo, estão associados ao mal funcionamento de funções fisiológicas, permitindo o desenvolvimento de doenças (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Em contrapartida, surgem os antioxidantes, que de acordo com Tiveron (2010, p. 18) compreendem “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz”. A reação

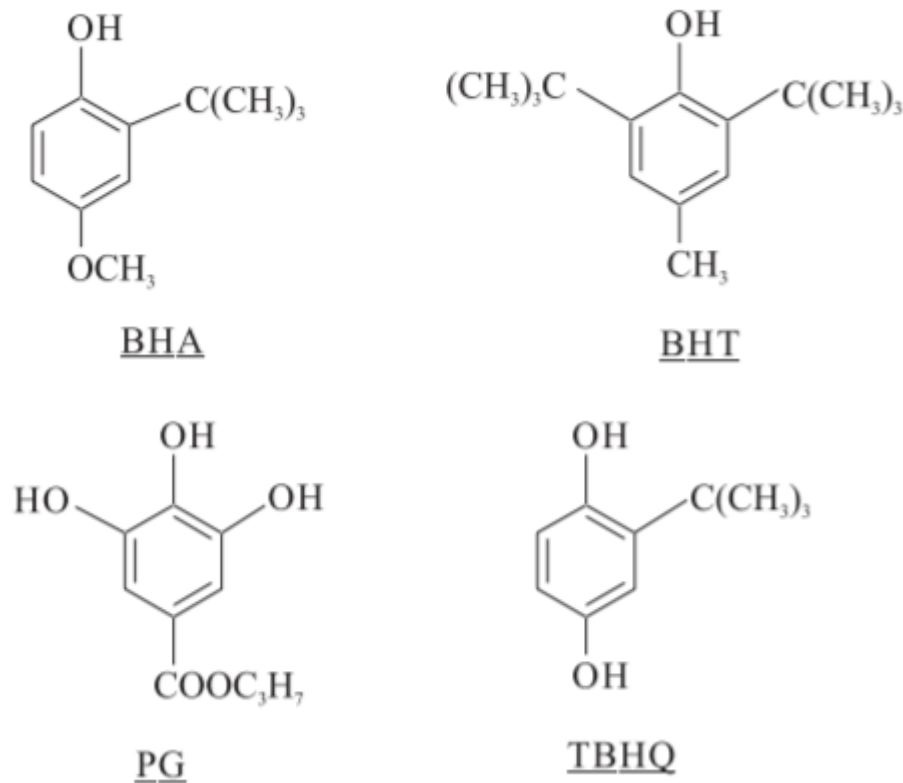
genérica de um radical qualquer e uma espécie antioxidante é representada pela Equação 1 abaixo.



O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelo radical livre  $R\cdot$  formando-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A\cdot$ ) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (TIVERON, 2015).

Exemplos de antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria alimentícia são: butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG). Todos têm estrutura fenólica e estão dispostos na Figura 3.

Figura 3: Alguns antioxidantes sintéticos.



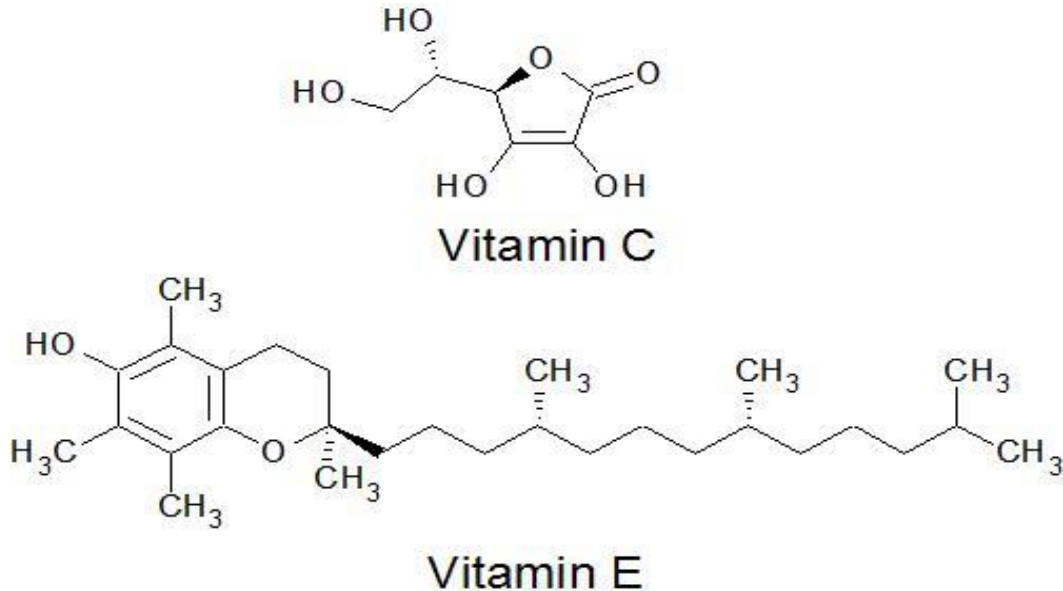
Fonte: TIVERON, 2010.

Apesar de uma grande gama de antioxidantes já ser conhecida, a busca por antioxidantes naturais para produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos vem representando um importante desafio para a pesquisa industrial nos últimos anos (SILVA *et al.*, 2010).

Além do aumento das possibilidades de produtos com capacidade antioxidante, há também um desejo da substituição dos antioxidantes sintéticos, os quais tem sido restringido pelo seu potencial carcinogênico, e ainda são associados com outros males, como o aumento do peso do fígado, por exemplo (NOVAES *et al.*, 2013).

Entre os antioxidantes naturais mais conhecidos estão as vitaminas, com destaque principalmente para a C (ácido ascórbico) e a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) (MORAIS *et al.*, 2009), respectivamente apresentados abaixo na Figura 4 abaixo.

Figura 4: Estruturas químicas das vitaminas C e E



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Além das vitaminas, os carotenóides, licopeno e compostos fenólicos de maneira geral também são tratados como ótimos agentes antioxidantes naturais devido às propriedades de neutralização de radicais livres, quelação de metais e bloqueio da ação de espécies reativas, principalmente as de oxigênio (DEL RE; JORGE, 2012).

## 2.5 COMPOSTOS FENÓLICOS

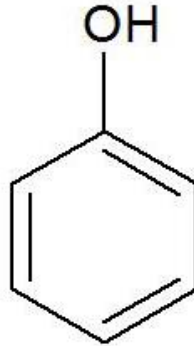
O que possibilita que certas árvores, ervas e arbustos (vegetais, no geral) apresentem algumas propriedades medicinais é a presença, em suas partes, de compostos chamados de metabólitos. Os vegetais apresentam dois tipos de metabólitos: os ditos primários são responsáveis pelas funções vitais da planta, como o processo de fotossíntese e respiração; já os metabólitos secundários estão ligados principalmente a estratégias de defesas e adaptação das plantas (CARDOSO; OLIVEIRA; CARDOSO, 2019).

Já nos seres humanos, esses metabólitos podem contribuir com propriedades antibacterianas, antivirais, antitumorais, analgésicas, imunoestimulantes, entre outras. (MAS TORO *et al.*, 2017). Estes são divididos em três grupos que apresentam distinções do ponto de vista estrutural: os terpenos, compostos contendo nitrogênio e compostos fenólicos (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os compostos fenólicos merecem grande destaque entre esses grupos. Suas estruturas

apresentam vários grupos benzênicos característicos, tendo como substituintes grupos hidroxilas (SAMPAIO, 2014), como mostra a Figura 5 abaixo.

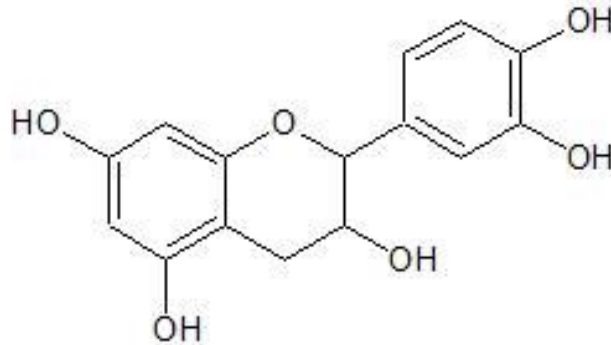
Figura 5: Estrutura básica de um fenol



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

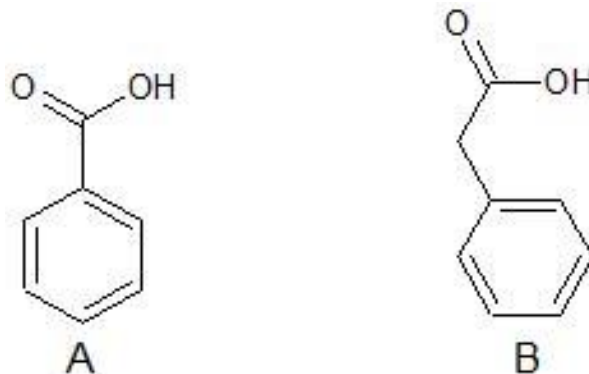
De acordo com sua estrutura, esses compostos dividem-se ainda em flavonoides (grupo que compreende os polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples e ácidos fenólicos). Exemplos de ambos podem ser observados nas Figuras 6 e 7 a seguir.

Figura 6: Exemplo de polifenóis: Catequinas



Fonte: Adaptado de SILVA *et al.*, 2010.

Figura 7: Exemplos de ácidos fenólicos: (A) ácido benzóico e (B) ácido fenilacético



Fonte: Adaptado de SILVA *et al.*, 2010.

Por conta de suas propriedades, os compostos fenólicos têm sido associados com diversas atividades ligadas à saúde, entre elas: a diminuição dos níveis de açúcar no sangue, redução do peso corporal, anticarcinogênico e anti-envelhecimento. Porém, os maiores benefícios relatados sobre esses compostos são decorrentes de sua atividade antioxidante



(VEGGI, 2013).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante tanto na neutralização ou seqüestro de radicais livres quanto na quelatação de metais de transição (MIRANDA; CASTRO, SILVÉRIO, 2014).

Tanto os elétrons deslocalizados no anel benzênico quanto os disponíveis nos grupos hidroxila conferem aos compostos fenólicos alta atividade antioxidante, visto que por doações de hidrogênio ou de elétrons é possível estabilizar radicais livres (SILVA *et al.*, 2010).

## 2.6 FUNDAMENTO DOS MÉTODOS: FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 2.6.1 Fenóis totais: Folin-Ciocalteu

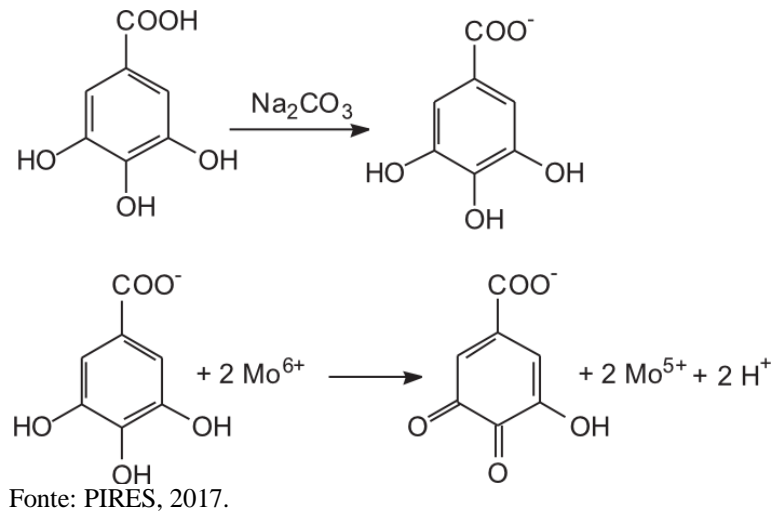
Uma variedade considerável de técnicas pode ser utilizada no processo de quantificação espectrométrica de compostos fenólicos. Dentre todas elas, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu figura entre as mais utilizadas (SOUSA *et al.*, 2007).

O ensaio colorimétrico que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu é um método espectrofotométrico simples, baseando-se na interação das substâncias redutoras com o reagente de Folin-Ciocalteu. A composição química deste reagente inclui o ácido fosfotúngstico ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) e ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), onde o tungstênio e o molibdênio se encontram em estado de oxidação +6. Eles são reduzidos a partir de extratos de vegetais ou outras substâncias testadas e que, originalmente, possuem coloração amarela (PIRES, 2017).

Quando na presença de alguns agentes redutores, como os compostos fenólicos, ocorre a formação de complexos conhecidos como molibdênio-tungstênio azuis  $[(PMoW_{11}O_4)^{4-}]$ , nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 (V) e 6 (VI). Sua coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras em comprimentos de onda próximos de 600-700 nm e que, não necessariamente, precisam ter natureza fenólica (ANDOLFATTO; OLIVEIRA, 2014).

A Figura 8 mostra como ocorre essa reação com moléculas do ácido gálico, que é o composto padrão utilizado para a curva de calibração nesse método.

Figura 8: Reação de ácido gálico com o complexo fosfomolibdico do reagente de Folin-Ciocalteu.

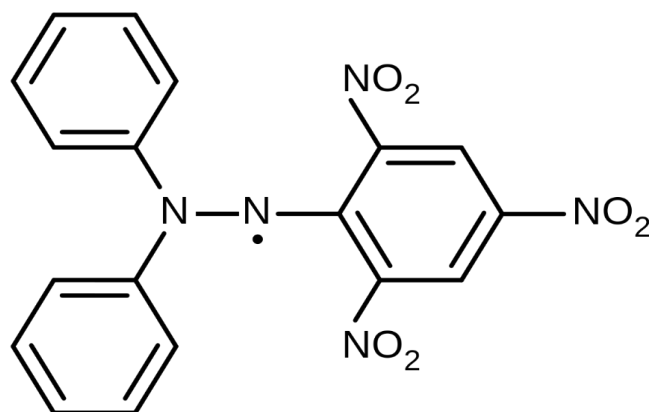


Porém, o maior ponto fraco do método é que pode haver a superestimação do conteúdo fenólico. O motivo disso é que o reagente de Folin-Ciocalteu não é específico para grupos fenólicos, sofrendo interferências de outras substâncias redutoras presentes na amostra. Vários interferentes não fenólicos são conhecidos, como por exemplo, a vitamina C, proteínas e açúcares redutores (OLIVEIRA, 2009).

### 2.6.2 Antioxidantes: Radical DPPH

Diversos métodos são descritos na literatura para avaliar o potencial antioxidante de extratos e/ou substâncias isoladas. Um dos ensaios antioxidantes mais comuns é baseado na captura do radical DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), produzindo um decréscimo da absorvância a 515/517 nm (ALVES *et al.*, 2010). A estrutura do radical DPPH pode ser observada logo abaixo, na Figura 9.

Figura 9: Estrutura do radical DPPH



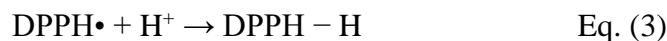
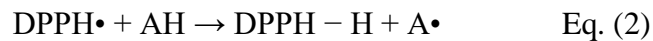
Fonte: TIVERON, 2010.

O teste de DPPH é um dos métodos indiretos mais antigos no que se refere à

determinação de atividade antioxidante, sendo sugerido originalmente em 1950 com o intuito de se descobrir doadores de hidrogênio em matérias naturais. Mais tarde foi utilizado para determinar o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados e alimentos tão bem como amostras biologicamente relevantes (BORGES *et al.*, 2011).

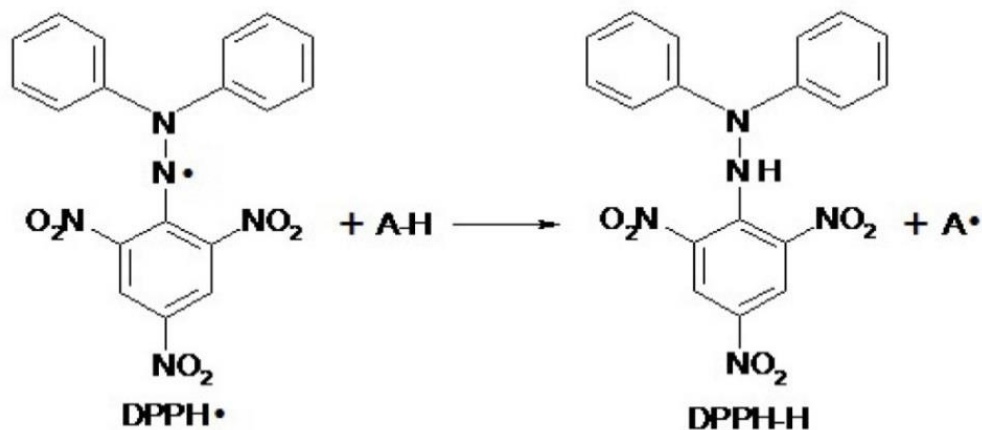
Nesse processo, ocorre uma reação de oxirredução onde o radical DPPH é reduzido para DPPH-H. O radical, antes apresentando coloração violeta, na forma reduzida tem sua coloração alterada para amarela. Este ensaio se baseia no mecanismo de transferência de um elétron (do inglês Single Electron Transfer - SET), processo que permite detectar a capacidade de um potencial antioxidante em transferir um elétron e reduzir qualquer substância, incluindo metais, carbonilas e radicais (PIRES, 2017).

A reação do radical livre DPPH com um antioxidante (AH) e a transferência de elétrons podem ser observadas conforme com as Equações 1 e 2 (OLIVEIRA, 2015):



Na Figura 10, é possível observar estruturalmente que a substância antioxidante (AH) age como doadora de um átomo de hidrogênio quando é adicionada à solução de DPPH, reduzindo e estabilizando o radical DPPH e formando a hidrazina, propiciando assim a mudança de coloração na solução, de violeta para amarelo claro (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011):

Figura 10: Reação entre o radical livre DPPH e espécie antioxidante



Fonte: OLIVEIRA, 2015.

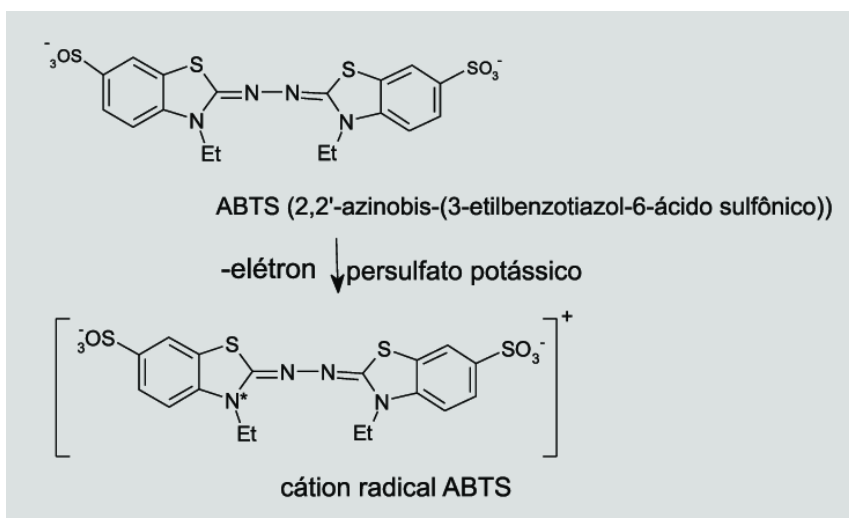
O DPPH pode reagir com compostos fenólicos, bem como com ácidos aromáticos contendo apenas um grupamento. Uma vantagem característica desse método é que ele não envolve condições drásticas de temperatura e oxigenação. Porém, por ser um método colorimétrico, não é muito aplicado para substâncias coloridas devido a interferências por pigmentos (BORGES *et al.*, 2011).

### 2.6.3 Antioxidantes: Radical ABTS

Assim como o método DPPH, o método que utiliza o radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazol-6-ácido sulfônico), conhecido como ABTS, é também bastante utilizado em ensaios para medir atividade antioxidante. A partir desse método é possível avaliar a atividade antioxidante de compostos tanto de natureza hirofílica quanto lipofílica (RUFINO *et al*, 2007).

Ao contrário do radical DPPH que pode ser diretamente utilizado, o  $ABTS^{+\cdot}$  necessita ser gerado por meio de reações químicas com persulfato de potássio –  $K_2S_2O_8$  - e água, dando origem a um composto de cor azul esverdeada. A solução deve então ser estocada no escuro a temperatura ambiente por 12– 16h antes do uso (SILVA, 2015). É possível observar a formação do cátion por meio da reação representada na Figura 11.

Figura 11: Formação do cátion radical  $ABTS^{+\cdot}$  pela reação com  $K_2S_2O_8$



Fonte: SCOTTI *et al.*, 2007.

O método antioxidante ABTS está baseado na habilidade das espécies antioxidantes em capturar o cátion radical  $ABTS^{+\cdot}$ . Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do  $ABTS^{+\cdot}$  a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional. Com a perda de cor, a porcentagem de inibição do  $ABTS^{+\cdot}$  é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante (TIVERON, 2010).

A leitura se dá por meio da absorbância lida em espectro de absorção de UV-Vis máxima em 734 nm e, a medida que a captura do radical vai ocorrendo, há um decréscimo da absorbância, visualizada pela redução da intensidade da cor do composto (SILVA, 2015).

Assim como o método DPPH, apresenta boa estabilidade (SOUZA, 2013), porém, com a vantagem de apresentar boa solubilidade tanto em solvente orgânicos como em aquosos, podendo ser aplicado na determinação da capacidade antioxidante de extratos e fluidos corpóreos (RIBEIRO, 2011).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 COLETA DO MATERIAL E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O material vegetal (folhas, galhos e cascas) foi obtido na unidade Fazenda-escola do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN) – Campus Apodi (5°37'35.9"S; 37°48'28.6"W).

As partes da árvore foram trituradas e deixadas sob ação do vento para secagem e posterior pesagem. Após isso, foram pesados em recipientes de vidro quantidades na faixa de 100 a 300g (dependendo da parte da árvore utilizada), e o material vegetal foi imerso completamente, e separadamente, em solventes pelo tempo de 72h. A extração foi realizada três vezes, sendo a primeira em hexano (P.A.), a segunda em etanol (P.A.) e a última, em água destilada, utilizando volumes próximos a 1L.

Após esse período, o extrato foi filtrado utilizando funil de vidro e algodão, e o solvente totalmente evaporado em rotaevaporador e, quando necessário, o banho-maria foi utilizado. Os extratos foram transferidos para recipientes de vidro, pesados e os seus rendimentos foram calculados de acordo com a equação 4 abaixo:

$$R\% = \left(\frac{MEB}{MT}\right) \times 100\% \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde: R% - rendimento percentual

MEB - massa de extrato bruto

MT - massa total de vegetal

#### 3.2 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A determinação de fenóis totais foi realizada segundo Bonolli *et.al.* (2004), através do método do reagente de Folin-Ciocalteu. Uma pequena porção (10 mg) de cada extrato foi dissolvida em metanol, sendo esse volume transferido para balão volumétrico de 100 mL, onde teve o menisco aferido com metanol. Dessa primeira solução, foi retirada uma alíquota de 7,5 mL e transferida para balão volumétrico de 50 mL, que teve seu volume novamente completado com metanol.

Desta última solução, foram utilizadas alíquotas de 100 µL em tubos de ensaio, onde foram agitadas com 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada por 1 minuto. Após esse tempo, foram adicionados 2 mL de solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15% (m/v) à mistura, que foi agitada por 2 minutos. Foi adicionada água destilada à mistura até que seu volume total chegasse a 10 mL, e os tubos de ensaio contendo as amostras foram mantidos em repouso e na ausência de luz por um período de 2h.

A absorvância das amostras foi medida a 750 nm em espectrofotômetro UV-Vis marca TEKNA T-2000, tendo como "branco" o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. As análises foram realizadas em triplicata.

O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorvância das amostras contra a curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 350 µg/mL). Os resultados foram expressos em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por grama de extrato.

### 3.3 AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.3.1 Método de captura do radical DPPH

Os extratos foram submetidos ao teste de atividade antioxidante por meio da captura do radical DPPH, descrito por Almeida *et al.* (2010). 100 mg de cada extrato foram dissolvidos e diluídos em metanol, a fim de se obter soluções em diversas concentrações diferentes (1000, 500, 100, 50 e 10 ppm). Alíquotas de 1 mL de cada diluição do extrato foram transferidas para tubos de ensaio, em ambiente escuro, onde reagiram com 1 mL de uma solução de DPPH 60 µmol/L.

Após decorridos 30 minutos de reação, a leitura das absorvâncias foi feita em espectrofotômetro UV-Vis marca TEKNA T-2000, em comprimento de onda de 520 nm, sendo utilizado como branco 1 mL da solução do radical com 1 mL de metanol, sem amostra. As análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de inibição de cada extrato (% in) foi calculada de acordo com a Equação 5 abaixo.

$$\% \text{ in} = \frac{\text{abs}_{\text{DPPH}} - \text{abs}_{\text{AMOSTRA}}}{\text{abs}_{\text{DPPH}}} \times 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

Sendo:

% in – Porcentagem de inibição do radical pela ação do extrato;

Abs<sub>DPPH</sub> – Absorvância do ensaio em branco;

Abs<sub>AMOSTRA</sub> – Absorvância do ensaio com extrato.

Os valores de inibição foram utilizados em software Excel para verificação da linearidade dos resultados, e então posteriormente foram calculados os valores de CI<sub>50</sub>.

#### 3.3.2 Método de captura do radical ABTS

O ensaio foi realizado utilizando o método descrito por Rufino *et al.* (2007). O radical :ABTS foi obtido pela reação da solução de ABTS 7 mmol/L com uma solução de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 140

mmol/L, deixados na ausência de luz e à 25°C durante 12-16h. Após reação, o radical formado foi diluído em etanol (aproximadamente 1 mL de radical para 100 mL de etanol) até que pudesse ser observada absorvância de 0,700 em comprimento de onda de 734 nm.

Os extratos foram dissolvidos em etanol e diluídos em, pelo menos, três concentrações entre 100 e 2000 µmol/L (variável dependendo da efetividade do extrato). Em ambiente escuro, 30 µL de cada diluição do extrato foram transferidos para tubos de ensaio contendo 3 mL de solução do radical ABTS. As análises foram realizadas em triplicata.

Após 6 minutos de reação, foram realizadas as leituras de absorvâncias em espectrofotômetro UV-Vis marca TEKNA T-2000 utilizando etanol como branco, a 734 nm. Como referência, foi utilizado Trolox entre 100 e 2000 µmol/L, e os resultados expressos em µMtrolox/g amostra.

Os cálculos foram realizados da seguinte forma:

Primeiramente, utilizando a curva de calibração padrão, foi calculada a absorvância referente a concentração de trolox igual a 1000 µmol/L, de acordo com a Equação 6 abaixo.

$$y = -ax + b \quad \text{Eq. 6}$$

Sendo: x = 1000 µmol/L de trolox

$$y = \text{Absorvância referente a } 1000 \text{ } \mu\text{mol/L de trolox}$$

Posteriormente, a absorvância obtida foi utilizada nas curvas de linearidade dos extratos para obtenção da diluição da amostra em mg/L, como mostra a Equação 7.

$$y = -ax + b \quad \text{Eq. 7}$$

Onde: y = Absorvância referente a 1000 µmol/L de trolox

$$x = \text{Diluição da amostra em mg/L}$$

O resultado encontrado (x) na Equação 7 foi dividido por 1000 para obtenção do valor em g. o resultado final (Equação z) foi calculado pela divisão de 1000 (µmol/L) pelo valor de X (g) e multiplicado por 1 (g) para conversão do valor final (Z) em µmol/L trolox/ g extrato, como é mostrado abaixo.

$$X (g) = \frac{x}{1000} \quad \text{Eq. 8}$$

$$Z = \frac{1000}{X (g)} \times 1 (g) \quad \text{Eq. 9}$$

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 OBTENÇÃO E RENDIMENTO DOS EXTRATOS

A retirada das partes da planta ocorreu com a ajuda dos servidores responsáveis. Houve o cuidado, ainda, de danificar o mínimo possível a árvore, apenas o necessário para a obtenção dos extratos. É possível observar o material vegetal abaixo, na Figura 12.

Figura 12: Material vegetal após a coleta: (A) Folhas, (B) galhos e (C) cascas da Sabiá.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Os recipientes utilizados são mostrados abaixo, na Figura 13, já com o material imerso em solvente.

Figura 13: Recipientes utilizados para extração



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

É importante ressaltar que, apesar de que a previsão fosse utilizar 300g de cada parte da planta, os recipientes não apresentaram capacidade suficiente. Além disso, pela diferença de densidade entre folhas, galhos e cascas, foram utilizadas quantidades diferentes de cada material vegetal. As massas de vegetal utilizadas estão dispostas na Tabela 2 a seguir.



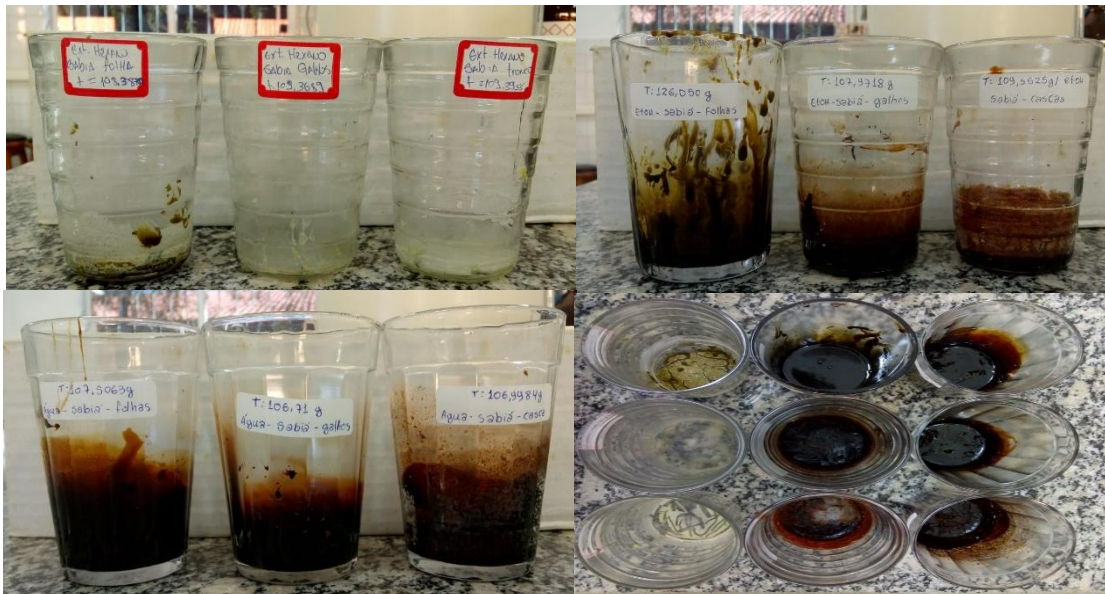
Tabela 2: Massas totais de vegetal utilizadas na obtenção dos extratos

MATERIAL VEGETAL	MASSA TOTAL (g)
FOLHAS	170,65
GALHOS	205,15
CASCAS	217,71

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Na Figura 14, é possível observar os extratos brutos após a evaporação de todo o solvente. Naturalmente, há certa diferença na coloração de cada um, de acordo com a parte da planta que foi usada.

Figura 14: Extratos após evaporação do solvente



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Após transferidos, os extratos foram novamente pesados e dessa forma foi possível calcular a massa de extrato bruto obtida. Os valores estão organizados na Tabela 3.

Tabela 3: Massas de extrato bruto obtidos em diferentes solventes

MATERIAL VEGETAL	MASSA DE EXTRATO BRUTO (g)		
	Hexano	Etanol	Água
Folhas	2,0479	11,8455	19,1857
Galhos	0,4895	5,0792	8,6373
Casca	0,3127	2,7589	3,6411

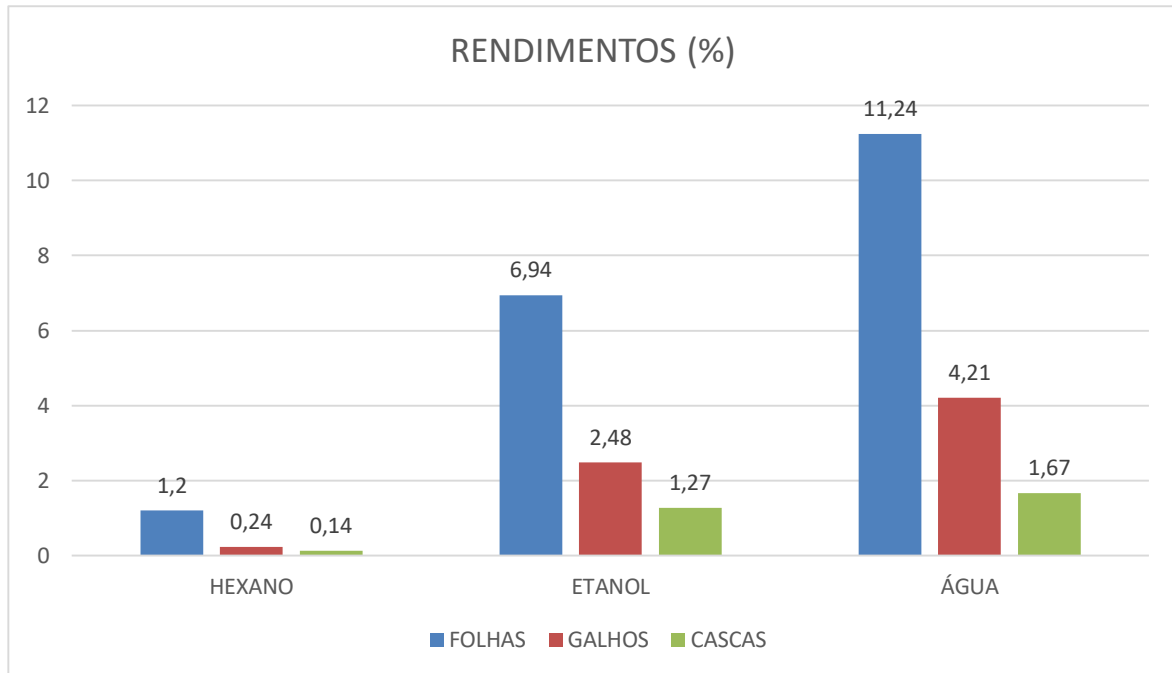
Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

É possível observar que, apesar de as folhas serem o material utilizado com menor massa (170,65 g), foi delas que houve a obtenção das maiores quantidades de extrato, considerando

cada um dos três solventes usados.

Após obtidas as massas de extrato bruto, o último passo consistiu no cálculo do rendimento percentual (R%), por meio da equação 4, apresentada anteriormente. Os rendimentos obtidos estão dispostos na Figura 15 a seguir.

Figura 15: Rendimentos percentuais dos extratos



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Observando os valores dispostos na Figura 15, é possível constatar que os maiores rendimentos obtidos (em todos os solventes, vale destacar) ficaram por conta das folhas, apresentando sempre valores maiores que o dobro dos rendimentos obtidos para os galhos. As cascas, por sua vez, apresentaram o menor rendimento em todos os solventes.

Houve também grande diferença quanto aos solventes utilizados. Considerando o mesmo material vegetal, a extração em água foi a mais efetiva, aparecendo inclusive com o maior rendimento (extrato aquoso de folhas): 11,24%. Extratos etanólicos se mostraram com rendimentos intermediários, enquanto os hexânicos apresentaram os 3 piores rendimentos no geral – folhas: 1,20%, galhos: 0,24% e cascas: 0,14%.

Levando em consideração a regra geral de solubilidade, que afirma resumidamente que semelhante dissolve semelhante, há uma tendência prévia de que há uma concentração maior de compostos polares do que de compostos apolares no material vegetal utilizado.

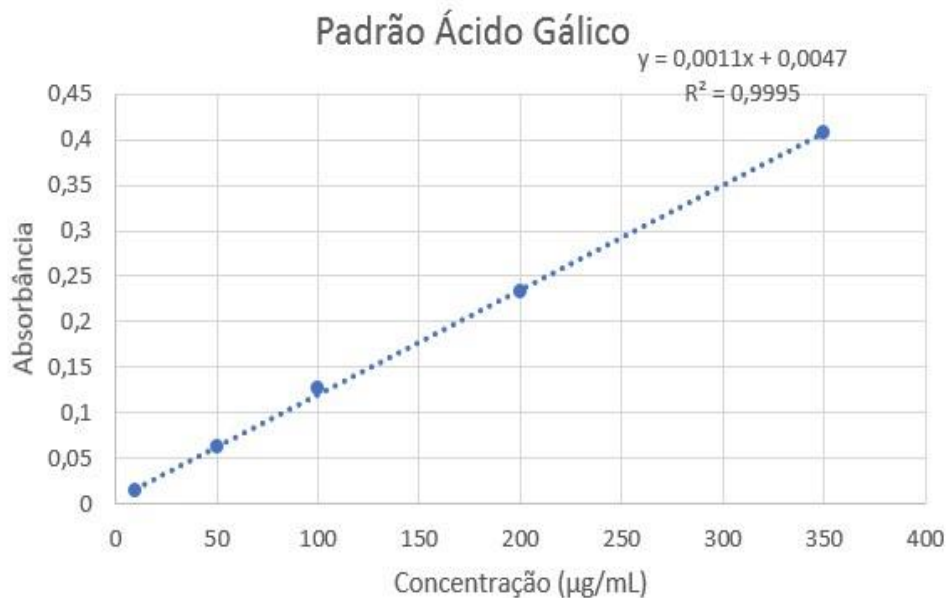
#### 4.2 FENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU

A quantificação de compostos fenólicos nesse caso é de suma importância, pois como já mencionado, esses compostos estão diretamente associados com atividades farmacológicas,

em especial a atividade antioxidante de vegetais (TIVERON, 2010).

Em meio básico, substâncias redutoras (a exemplo dos compostos fenólicos) conseguem atuar na redução do reagente de Folin-ciocalteu, deixando a solução com coloração azulada (PIRES *et al.*, 2017). Utilizando a curva de calibração construída com padrão de ácido gálico abaixo, exibida na Figura 16, foi possível chegar aos valores apresentados na Tabela 4 logo a seguir.

Figura 16: Curva de calibração padrão de ácido gálico



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Tabela 4: Teor de fenóis totais dos extratos

MATERIAL	TEOR DE FENÓIS TOTAIS (mgEAG/g extrato bruto)		
	Hexano	Etanol	Água
VEGETAL			
Folhas	--*	1,64	3,00
Galhos	3,30	33,64	17,82
Cascas	1,78	23,00	9,64

\*Abaixo do limite de detecção

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Observa-se que o maior teor de fenóis foi relatado nos extratos de etanol (com exceção das folhas), sendo o valor de 33,64 mgEAG/g extrato referente ao extrato dos galhos e 23,00 mgEAG/g extrato referente ao das cascas. Nesse quesito, os extratos aquosos aparecem um pouco abaixo, com valores iguais a 17,82 e 9,64 mgEAG/g extrato para galhos e cascas, respectivamente.

É possível observar também os extratos hexânicos apresentaram valores muito baixos

ou ainda valores indetectáveis neste método, o que é justificável. A maioria dos compostos fenólicos é encontrada na natureza na forma de ésteres e heterosídeos, apresentando dessa forma, maior solubilidade em solventes polares (OLDONI, 2007).

Além dos extratos hexânicos, o que também foi observado é que há a indicação de que não há concentração considerável de compostos fenólicos nas folhas da árvore de Sabiá, uma vez que em nenhum dos solventes foi detectada grande atividade redutora do reagente de Folin-ciocalteu, comparado às outras partes da árvore.

Ao estudar extratos das folhas e frutos do Jamelão (*Syzygium cumini* L.), que também apresenta ocorrência na região Nordeste, Veber *et al.* (2015) observou maior concentração de compostos fenólicos nas folhas da árvore em comparação com os frutos. Em média, as folhas apresentaram 237,52 mgEAG/100g de extrato, enquanto o melhor resultado referente aos frutos se mostrou igual a 109,17 mgEAG/100g de extrato.

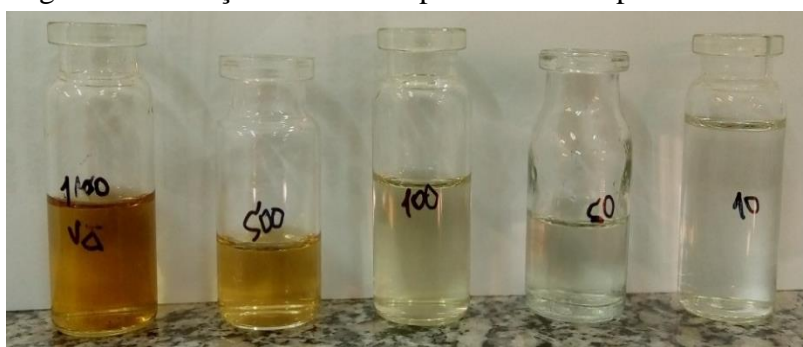
Sousa *et al.* (2007), em testes fitoquímicos realizados com 5 plantas medicinais distintas (*Terminalia brasiliensis* Camb., *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc., *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire, *Qualea grandiflora* Mart. e *Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore), relatou teor de compostos fenólicos igual a 763,63 e 667,90 mgEAG/g de extrato em extratos de cascas e folhas, respectivamente, da *Terminalia brasiliensis* (cerne-amarelo).

Com isso, percebe-se que os valores de concentração de fenóis obtidos (mesmo em extratos etanólicos) mostram-se bastante abaixo quando comparados a outras plantas que possuem atividades farmacológicas.

#### 4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: DPPH

A Figura 17 mostra as diluições realizadas para cada extrato. Quando os extratos se mostraram muito efetivos na inibição do radical, foram feitas soluções ainda mais diluídas dos mesmos, com concentrações iguais a 2 e 4 mg/L.

Figura 17: Diluições realizadas para teste de captura do DPPH



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Após a reação e leitura das absorbâncias, a porcentagem de inibição do radical (% in)

foi calculada e os valores dispostos na Tabela 5.

Tabela 5: % inibição para diferentes diluições dos extratos

	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>500</b>	<b>1000</b>
	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>
<b>EHF</b>	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	3,11%	12,22%	21,12%	89,65%	93,17%
<b>EHG</b>	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	- <sup>b</sup>	0,83%	1,86%	10,33%	17,98%
<b>EHC</b>	- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>	2,42%	- <sup>b</sup>	2,02%	15,72%	31,65%
<b>EEF</b>	9,75%	17,51%	28,88%	90,43%	93,68%	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
<b>EEG</b>	14,02%	27,68%	70,85%	93,36%	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
<b>EEC</b>	5,23%	10,09%	39,25%	92,34%	92,52%	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
<b>EAF</b>	- <sup>b</sup>	1,54%	5,57%	45,36%	77,52%	85,98%	- <sup>c</sup>
<b>EAG</b>	11,73%	24,38%	48,52%	89,44%	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
<b>EAC</b>	4,78%	16,88%	53,82%	85,99%	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>

EHF – Extrato Hexano Folhas; EHG - Extrato Hexano Galhos; EHC - Extrato Hexano Cascas; EEF – Extrato Etanol Folhas; EEG – Extrato Etanol Galhos; EEC – Extrato Etanol Cascas; EAF – Extrato Aquoso Folhas; EAG – Extrato Aquoso Galhos; EAC – Extrato Aquoso Cascas.

-<sup>a</sup> Não foi realizada diluição para essa concentração

-<sup>b</sup> Não foi detectada inibição

-<sup>c</sup> Ponto onde houve decréscimo da inibição

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Em 50 mg/L, os extratos etanólicos já apresentaram inibição superior a 90%, o que indica grande atividade antioxidante. Os extratos aquosos não ficam muito atrás (com exceção das folhas), com cerca de 89% de inibição referente aos galhos e 86% às cascas. Já os hexânicos não tiveram o mesmo desempenho, porém é interessante destacar que os extratos das folhas apresentaram inibição bastante superior aos galhos e cascas para o mesmo solvente.

Os valores da Tabela 5 foram utilizados em software Excel para com o intuito de observar a linearidade dos resultados, permitindo a obtenção das curvas para cálculo do CI<sub>50</sub> (Apêndice A). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores de  $CI_{50}$ 

MATERIAL	$CI_{50}$ (mg/L)		
	Hexano	Etanol	Água
<b>VEGETAL</b>			
<b>Folhas</b>	271,04	24,74	62,70
<b>Galhos</b>	NAA	7,08	10,21
<b>Cascas</b>	NAA	26,50	9,38
<b>Vitamina C</b>		43,0	
<b>Trolox</b>		4,00	

NAA – Não apresentou atividade

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Novamente, destacam-se os extratos etanólicos, apresentando valores mais efetivos que o padrão positivo de vitamina C, porém menos efetivos que o trolox, um análogo sintético da vitamina E. O melhor resultado de  $CI_{50}$  para esses extratos foi observado nos galhos com 7,08 mg/L, muito próximo ao padrão trolox. Em seguida as folhas, com 24,74 mg/L e cascas com 26,5 mg/L. destacando que, quanto menor o valor de  $CE_{50}$ , maior é o poder antioxidante do extrato.

Os extratos aquosos também apresentaram resultados bastante positivos, com 9,38 mg/L nos extratos das cascas, 10,21 mg/L nos dos galhos e 62,70 mg/L nos das folhas. Com excessão das folhas (271,04 mg/L), os extratos hexânicos não apresentaram atividade antioxidante detectável para o método de captura do radical DPPH.

O trabalho desenvolvido por Morais *et al.* (2016) realizou estudos com extratos em diferentes polaridades das folhas, galhos e raízes da espécie *Cnidocolus phyllacanthus* (Faveleira). Utilizando a mesma metodologia, o melhor resultado de  $CE_{50}$  foi encontrado no extrato das folhas em hexano, com valor igual a 58,30 mg/L, próximo ao padrão de vitamina C, porém, em nenhum outro extrato se conseguiu outro valor tão expressivo quanto o mencionado anteriormente.

Tiveron (2010) utilizou o método de captura do DPPH para avaliar o poder antioxidante de várias verduras, legumes e hortaliças. A hortaliça que apresentou melhor (consequentemente, menor) valor de  $CE_{50}$  foi a alface (17,07 mg/mL); em seguida, a alcachofra (18,14 mg/mL). O pior resultado ficou por conta da salsa (109,82 mg/mL).

#### 4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: ABTS

Excluindo-se o fator de preparação do radical, que leva o periodo entre 12-16h, o método antioxidante que utiliza o cátion radical  $ABTS^{++}$  é de realização rápida e bastante simples. O

cátion radical  $ABTS^{*+}$  que possui coloração verde-escura, quando na presença de antioxidantes sofre um decréscimo na absorbância, o que pode ser confirmado observando o clareamento da cor do radical, como ilustra a Figura 18.

Quanto melhor ou mais concentrado for o antioxidante, mais fraca é a cor do radical. Da esquerda para a direita, as diluições dos extratos utilizados possuem concentrações iguais a 100, 1000 e 2000 mg/L.

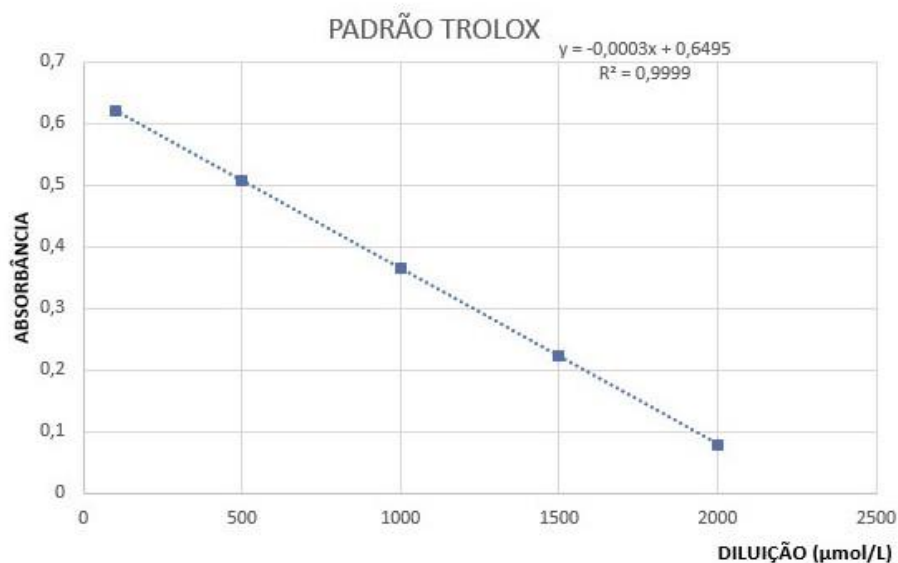
Figura 18: Reação do  $ABTS^{*+}$  com diluições diferentes do extrato etanólico das folhas do Sabiá



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

A linearidade das absorbâncias foi verificada e a partir das curvas obtidas (Apêndice B), e a atividade antioxidante total dos extratos foi calculada em função da curva de calibração do Trolox abaixo (Figura 19). Os resultados estão organizados na Tabela 7.

Figura 19: Curva de calibração padrão de Trolox



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

É possível observar que o melhor resultado foi obtido na análise do extrato etanólico

dos galhos da planta, com valor igual a 2658,57  $\mu\text{mol/Ltrolox/g}$  extrato. Logo em seguida, aparece o extrato etanólico das cascas, igual a 2314,81  $\mu\text{mol/Ltrolox /g}$  extrato.

Tabela 7: Atividade antioxidante dos extratos em função do trolox pelo método ABTS<sup>++</sup>

EXTRATOS	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
	( $\mu\text{mol/Ltrolox /g}$ )
HEXANO FOLHAS	62,91
HEXANO GALHOS	14,66
HEXANO CASCAS	57,00
ETANOL FOLHAS	934,58
ETANOL GALHOS	2658,57
ETANOL CASCAS	2314,81
ÁGUA FOLHAS	292,31
ÁGUA GALHOS	1449,28
ÁGUA CASCAS	871,84

<sup>-a</sup> Acima do limite de detecção

Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Morais *et al.* (2013) realizou trabalhos sobre a atividade antioxidante de frutos e sementes presentes no cerrado brasileiro. O ensaio feito com ABTS<sup>++</sup> utilizou extratos metanólicos e em acetona desses materiais vegetais. Os melhores resultados foram observados no mesocarpo da *Caryocar brasiliensis* (Pequi) e na semente da *Solanum lycocarpum* (Lobeira) com valores respectivos de 1230,0 e 820,0  $\mu\text{mol/Ltrolox /g}$  extrato.

Já Souza (2013) utilizou etanol acidificado com HCl para extração em folhas de 6 diferentes espécies de plantas. Enquanto a maior atividade antioxidante foi encontrada na folha de guabiroba (13439,45  $\mu\text{mol/Ltrolox /g}$  extrato), o valor obtido para a acerola (3040,85  $\mu\text{mol/Ltrolox /g}$  extrato) mostrou-se quase 5 vezes menor.

Os valores de atividade antioxidante obtidos tanto no método de captura do DDPH quanto do cátion radical ABTS<sup>++</sup> deixaram claro que dentre todos os extratos estudados, os hexânicos são os que possuem a menor quantidade de compostos com poder antioxidante.

#### 4.5 CORRELAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados referentes a teor de Fenóis Totais e aos dois métodos de determinação de atividade antioxidante foram analisados em Software Excel a fim de verificar se estes apresentaram boas correlações entre si.

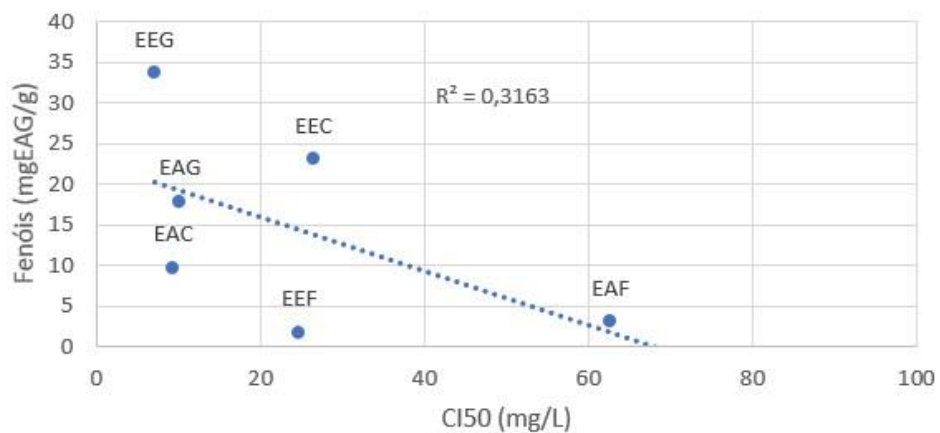


Compostos fenólicos estão diretamente ligados à atividade antioxidante. Achkar *et al.* (2013) afirma que a ingestão de alimentos ricos em fenóis e ácidos fenólicos possuem relação direta com a baixa incidência e ainda a baixa mortalidade decorrente de câncer.

A Figura 20 mostra os fatores de correlação entre o teor de Fenóis Totais e o método DPPH, enquanto a Figura 21 relaciona os compostos fenólicos totais e o método antioxidante ABTS.

Figura 20: Correlação Fenóis Totais x DPPH

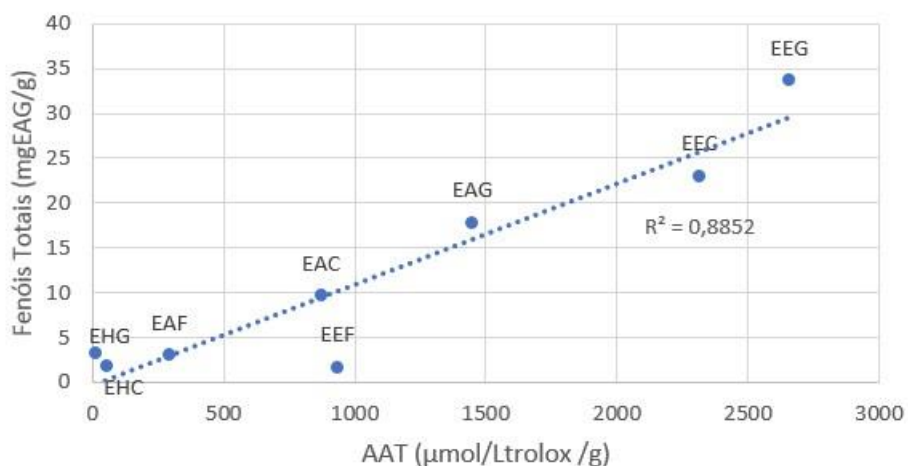
### Correlação entre Fenóis Totais e Atividade Antioxidante DPPH



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

Figura 21: Correlação Fenóis Totais x ABTS

### Correlação entre Fenóis Totais e ABTS



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

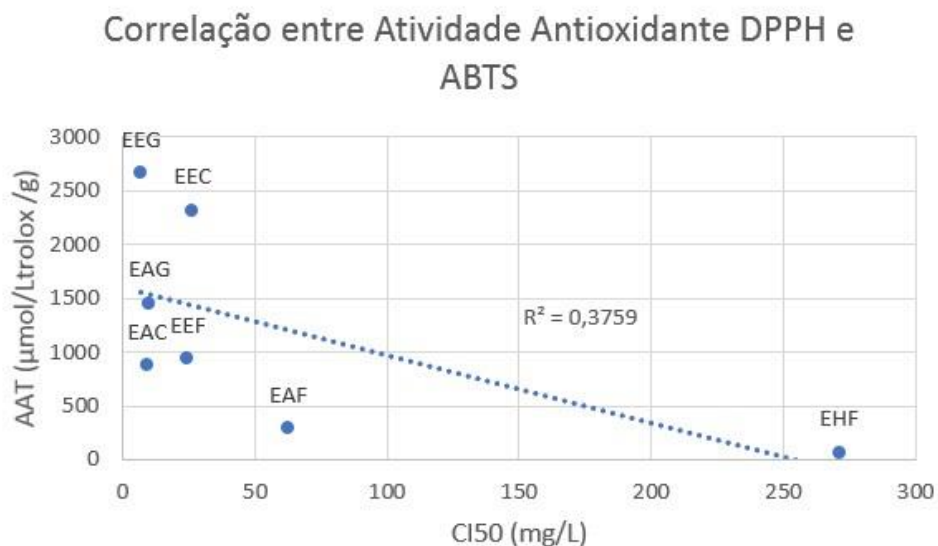
É possível observar que não houve correlação linear considerável entre o teor de fenóis totais e o método DPPH, uma vez que o fator de correlação se mostrou muito baixo ( $R^2 = 0,3163$ ). Apesar disso, o Extrato Etanol Galhos (EEG) apresentou maior teor de fenóis, com

33,64 mgEAG/g extrato e também o melhor valor de  $CI_{50}$ , com 7,08 mg/L.

Já observando a Figura 21, percebe-se uma correlação bem mais evidente entre o teor de fenóis e a atividade antioxidante ABTS, com  $R^2$  bem mais significativo, igual a 0,8852. Novamente, destaca-se o EEG, que além do maior teor de fenóis, também apresentou maior atividade antioxidante para esse método com 2658,57  $\mu\text{mol/Ltrolox}$ . De forma geral, os melhores extratos em termos de fenóis totais também apresentaram os melhores resultados para o método antioxidante ABTS.

Por fim, a Figura 22 mostra possíveis correlações entre os dois métodos de atividade antioxidante. Porém, novamente não há confirmação de boa correlação entre os dois métodos, uma vez que o fator de correlação mostrou-se mais uma vez muito baixo ( $R^2 = 0,3759$ ).

Figura 22: Correlação Método DPPH x ABTS



Fonte: Elaborado pelo autor, 2019.

O mesmo padrão entre as correlações pode ser observado no trabalho de Tiveron (2010). No caso, as correlações entre Fenóis Totais x DPPH ( $R^2 = 0,3400$ ) e DPPH x ABTS ( $R^2 = 0,3603$ ) se mostraram muito baixas, enquanto a relação de compostos fenólicos com o método antioxidante ABTS mostrou-se como a mais evidente entre elas, visto que seu fator de correlação foi igual a 0,6319. Esse tipo de comparação entre os resultados torna ainda mais claras as distinções de cada método na análise de um mesmo grupo de compostos, como cada método possui formas de detecção diferentes.

## 5 CONCLUSÕES

O rendimento dos extratos se mostrou satisfatório, porém deixou claro que o material vegetal utilizado possuía baixa concentração de compostos solúveis no solvente hexano (apolares).

A quantificação de fenóis totais mostrou-se abaixo do esperado e de outros trabalhos utilizados como comparação, mesmo nos extratos etanólicos, citados na literatura como um dos mais eficientes na extração de compostos dessa natureza.

A avaliação do potencial antioxidante pelo método de captura do DPPH revelou que os extratos obtidos possuem boa resposta ao método, pois foram observados resultados satisfatórios (caso dos extratos aquosos e etanólicos) e muito próximos de antioxidantes já conhecidos e utilizados como padrão positivo, a exemplo da vitamina C e do Trolox. O ensaio ABTS<sup>•+</sup> também mostrou melhores resultados para extratos etanólicos e aquoso.

Apesar disso, não houve correlação evidente entre os dois métodos antioxidantes. Em contrapartida, foi possível observar certa relação entre o teor de fenóis e o método antioxidante que utiliza o ABTS<sup>•+</sup>, algo já documentado também na literatura.

Valores tão positivos de atividade antioxidante encontrados nos extratos etanólicos e aquosos (nos dois métodos utilizados, o que é importante) sustentam a premissa da realização de pesquisas posteriores acerca dos compostos presentes na árvore de sabiá.

## REFERÊNCIAS

- ACHKAR, M. T. *et al.* Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p.398-406, 2013.
- ALMEIDA, M. C. S. *et al.* Flavonoids and other substances from *Lippia sidoides* and their antioxidant activities. **Química Nova**, v. 33, p. 1877-1881, 2010.
- ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p.2202-2210, 2010.
- ANDOLFATTO, S.; OLIVEIRA, S. C. de. **Otimização do processo de extração de compostos bioativos da própolis produzida por abelhas geneticamente modificada**. 2014. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 2014.
- AVELINO, M. C. S. *et al.* Testes bioquímicos de integridade de membranas na avaliação do vigor de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p.100-108, 2018.
- BANDEIRA, A. S. **Etnoconhecimento da utilização de plantas medicinais nos municípios polarizados por Pombal – PB**. 2014. 54 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2015.
- BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p.629-643, 2010.
- BONOLI, M. *et al.* Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study Among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5195-5200, 2004.
- BORGES, L. L. *et al.* Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 7, n. 12, p.1-20, 2011.
- BRASIL é o sexto maior mercado farmacêutico do mundo. **Guia da farmácia**, 2018. Disponível em: <<https://guiadafarmacia.com.br/materia/brasil-e-o-sexto-maior-mercado-farmacutico-do-mundo/>>. Acesso em: 20 ago. 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Flora é reconhecida como uma das mais importantes do mundo**, 2012. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/noticias/meio-ambiente/2012/04/flora-brasileira>>. Acesso em 27 mai. 19.
- BRASILEIRO, B. G. *et al.* Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no “programa de saúde da família” Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.
- BRITO, A.G. R. *et al.* Fitoterapia: uma Alternativa Terapêutica para o Cuidado em Enfermagem - Relato de Experiência. **Biota Amazônia**, v. 4, n. 4, p.15-20, 2014.

- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. de M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 17, n. 10, p.2675-2685, 2012.
- CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, M. E. B. de; CARDOSO, F. de C. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 2, p.124-132, 2019.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and chemical toxicology**, v. 51, p. 15-25, 2013.
- CARVALHO, P. E. R. **Sabiá** (*Mimosa caesalpinifolia*). EMBRAPA florestas: Circular técnica, n. 135, 10 p. Colombo, Paraná, 2007.
- CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES A. G. Total antioxidant capacity of edible vegetable oils: chemical determinants and association with oil quality. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173-187, 2011.
- CNCFlora**. *Mimosa caesalpinifolia* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/ptbr/profile/Mimosa caesalpinifolia](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/ptbr/profile/Mimosa-caesalpinifolia)>. Acesso em 21 abril 2019.
- COSTA-LOTUFO, L. V. *et al.* The Contribution of Natural Products as Source of New Anticancer Drugs: Studies Carried Out at the National Experimental Oncology Laboratory from the Federal University of Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p.47-58, 2010.
- DEL RE, P.V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Rev. bras. plantas med.**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012 .
- DRUMOND, M. A. Sabiá. **Agência Embrapa de informação tecnológica – AGEITEC**. 2010. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/biomacaatinga/arvore/CONT000g798rt3n02wx5ok0wtedt3sugbu5b.html>>. Acesso em 19 de abril de 2019.
- FORZZA, R. C. org. *et al.* Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Introdução: síntese da diversidade brasileira, v. 1, p. 19-42., 2010.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 3.ed., v. 1, 351 p, 2000.
- MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014.
- MAS TORO, D. *et al.* Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. **Rev. Cubana Plant. Med.**, Ciudad de la Habana, v. 22, n. 1, 2017.

- MELO, L. A. *et al.* Qualidade e crescimento inicial de mudas de *Mimosa caesalpinifolia* benth. produzidas em diferentes volumes de recipientes. **Ciência Florestal**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.47-55, 2 abr. 2018.
- MIRANDA, A.R.; CASTRO, C.F.S.; SILVERIO, M.D.O. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). **Rev. bras. plantas med.**, v. 16, n. 3, p. 693-699, 2014.
- MORAIS, M. L. *et al.* Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p.355-360, 2013.
- MORAIS, N. R. L. *et al.* Prospecção fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante de *Cnidocolus phyllacanthus* (müll. Arg.) Pax & k.hoffm. Oriundo de apodi – RN. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p.180-185, 2016.
- MORAIS, S. M. *et al.* Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev. bras. farmacogn.** v. 19, n. 1b, p. 315-320, 2009.
- MOURA, O. N. *et al.* Distribuição de biomassa e nutrientes na área de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. **Rev. Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 6, p. 877-884, 2006.
- NOVAES, G. M. *et al.* Compostos antioxidantes e sua importância nos organismos. **CEU Arkos La Universidad Vallartense**, v. 11, n. 2, p. 535-539, 2013.
- OLDONI, T. L. C. **Isolamento e identificação de compostos com atividade antioxidante de uma nova variedade de própolis brasileira produzida por abelhas da espécie de *Apis mellifera***. 2007. 105 p. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- OLIVEIRA *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- OLIVEIRA, G. I. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.
- PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nut.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 231-247, 2009.
- PEREIRA, J. B. A. *et al.* O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 17, n. 4, p. 550-561, 2015.
- PINHEIRO JUNIOR, D. O.; GADELHA, T.; CASTRO, A. A. **Monitoramento dos indicadores de inovação, importação e exportação na indústria farmacêutica**. UFSE. Revista GEINTEC, São Cristóvão, SE, v.3, n.5, p. 313-328, 2013.
- PIRES, J. S. *et al.* **Ensaio em microplaca de substâncias redutoras pelo método do Folin-Ciocalteu para extratos de algas**. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

RIBEIRO, E.M.G. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) com e sem casca**. 2011. 77 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

RICARDO, L. M. **O uso de plantas medicinais na medicina popular praticada em assentamentos do MST do estado do Rio de Janeiro: uma contribuição para o SUS**. 2011. 192 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (Nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

RUFINO, M. S. M. *et al.* **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS<sup>•+</sup>**. EMBRAPA. Comunicado Técnico, n. 128, 4p, Fortaleza, 2007.

SAMPAIO, P. B. **Avaliação bioquímica de compostos fenólicos in vitro e biológica do extrato purificado de açai (*Euterpe oleracea*) em modelo in vivo de carcinogênese de cólon induzida**". 2014. 127 f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

SCOTTI, L. *et al.* Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p.153-166, 2007.

SILVA, M. G. C. *et al.* Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M. O. **Atividade Antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*)**. 2015. 154 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

SOUZA, W. **Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais**. 2013. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, 2010.

TIVERON, A. P. **Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira**. 2015. 122 p. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Brazilian journal of pharmaceutical sciences**. v. 42, n. 2, abr/jun., 2006.

VEBER, J. *et al.* Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 267-273, 2015.

VEGGI, P. C. **Obtenção de compostos fenólicos de plantas brasileiras via tecnologia supercrítica utilizando cossolventes e extração assistida por ultrassom**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas: SP, 2013.

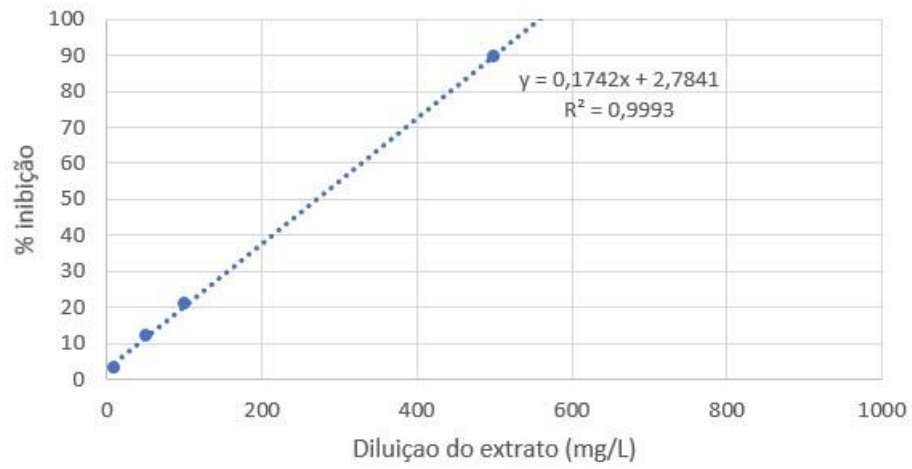
VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.



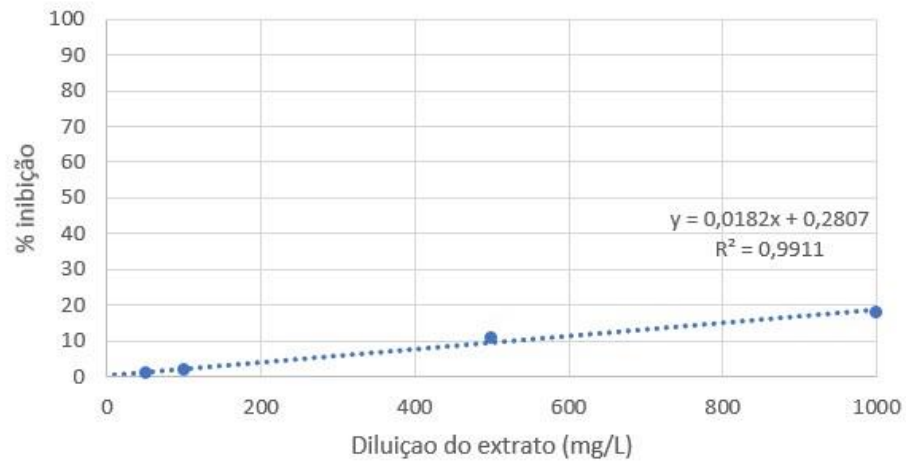
## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A – CURVAS DE LINEARIDADE DO MÉTODO DPPH

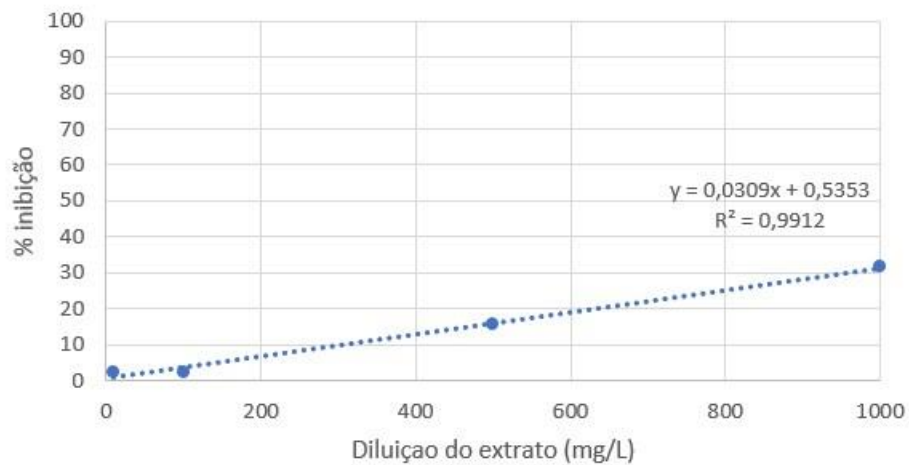
Extrato Hexano Folhas



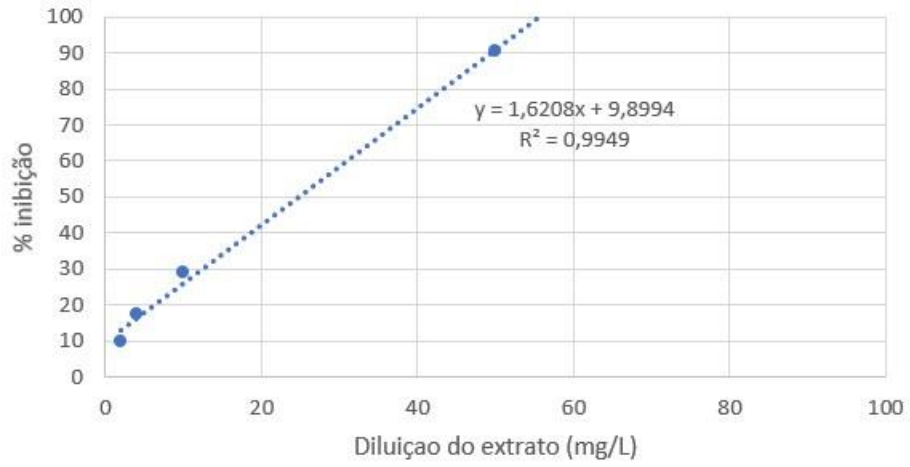
Extrato Hexano Galhos



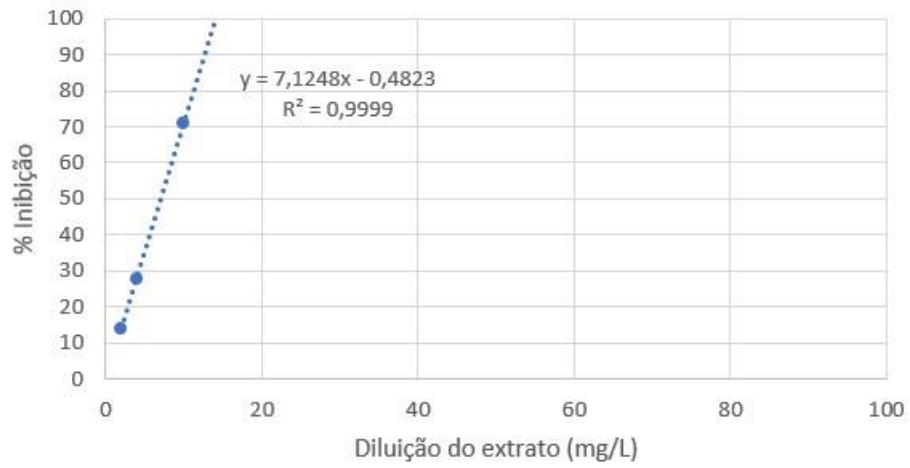
Extrato Hexano Cascas



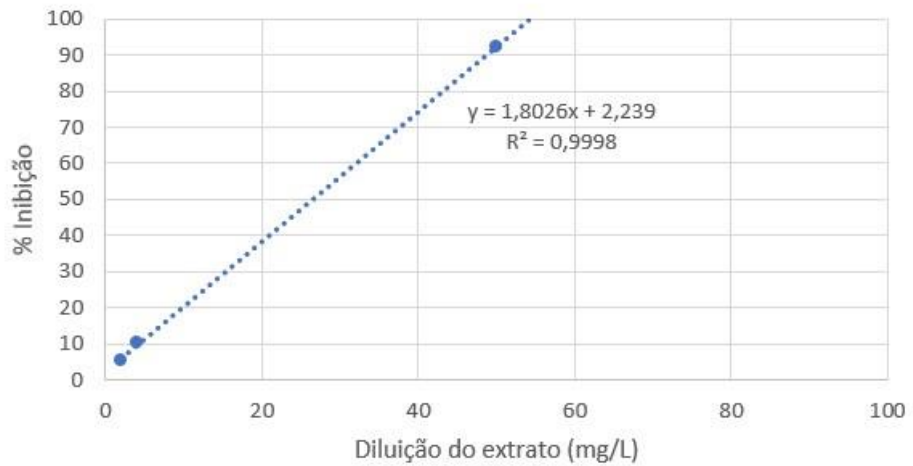
### Extrato Etanol Folhas



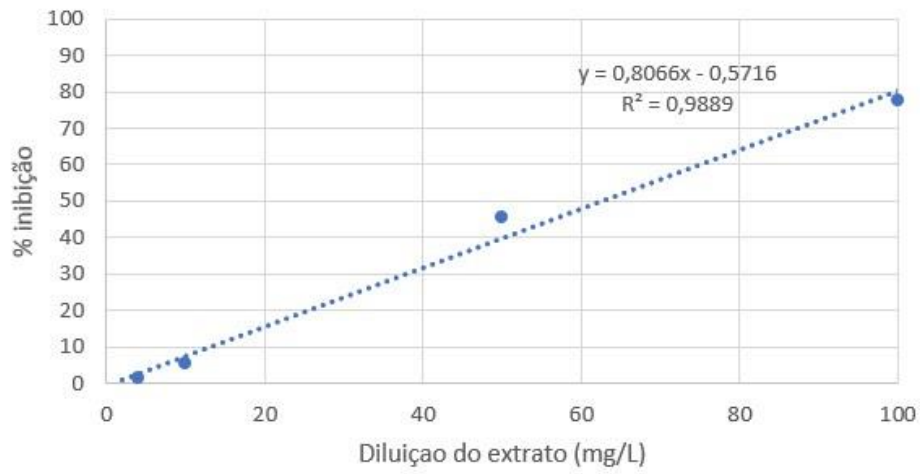
### Extrato Etanol Galhos



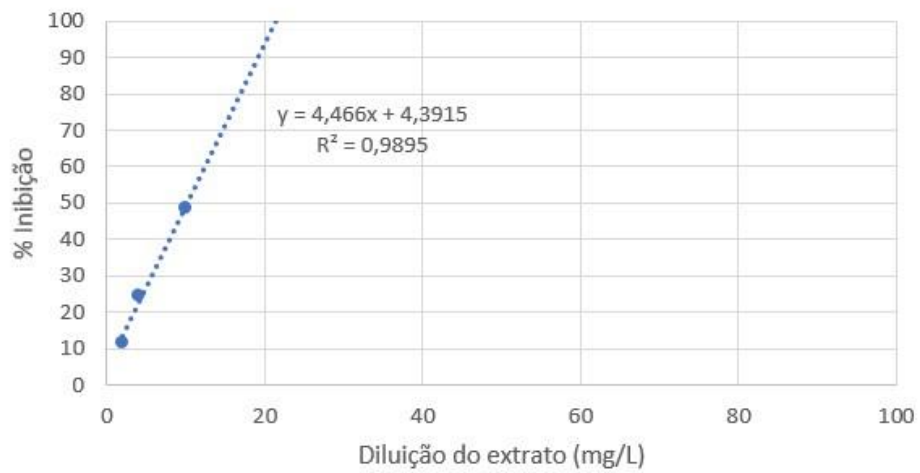
### Extrato Etanol Cascas



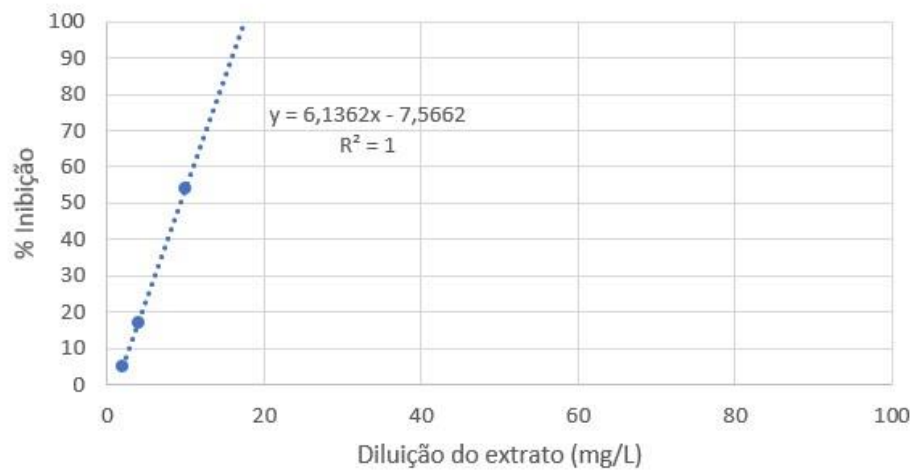
### Extrato Água Folhas

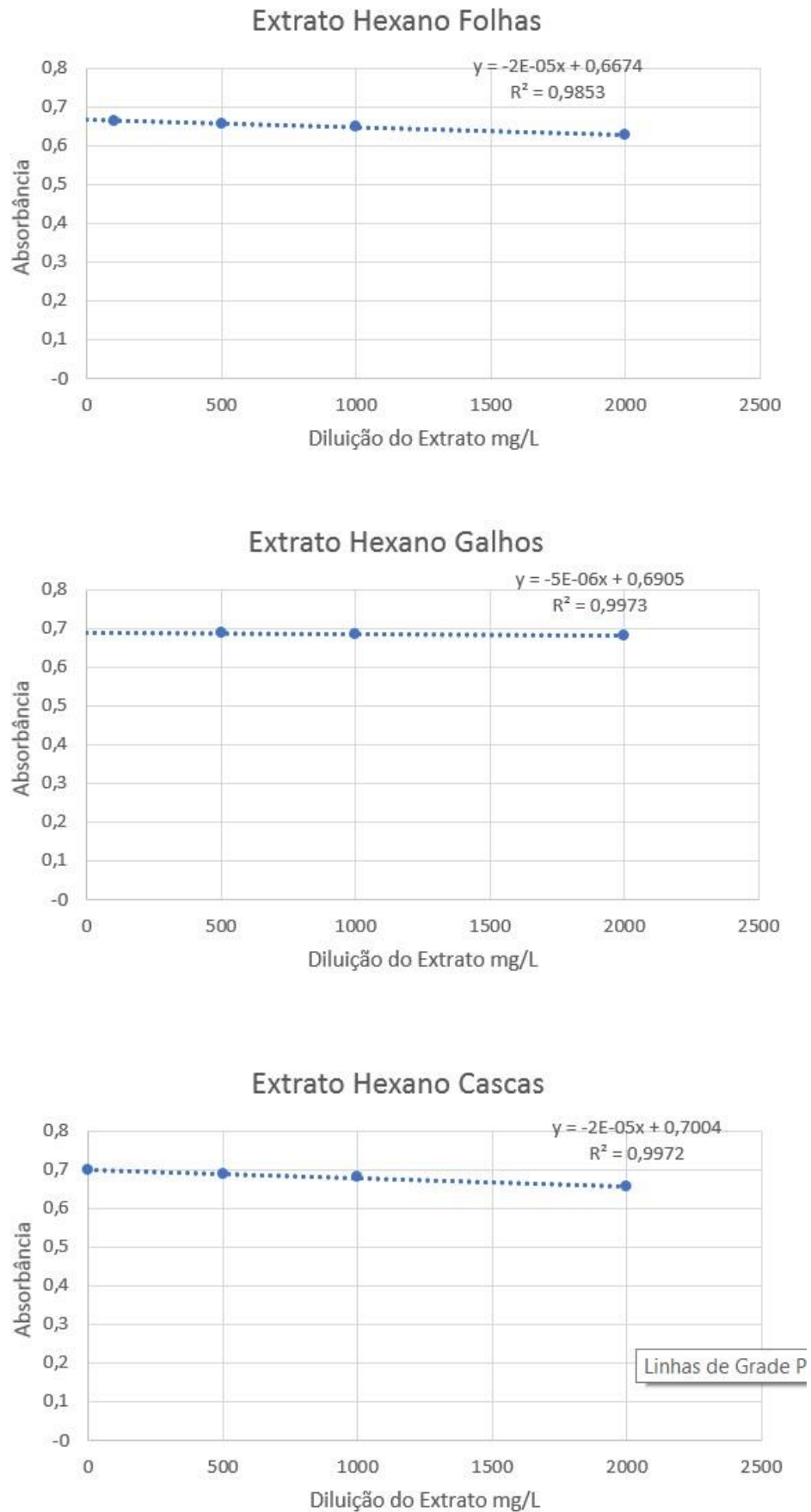


### Extrato Água Galhos

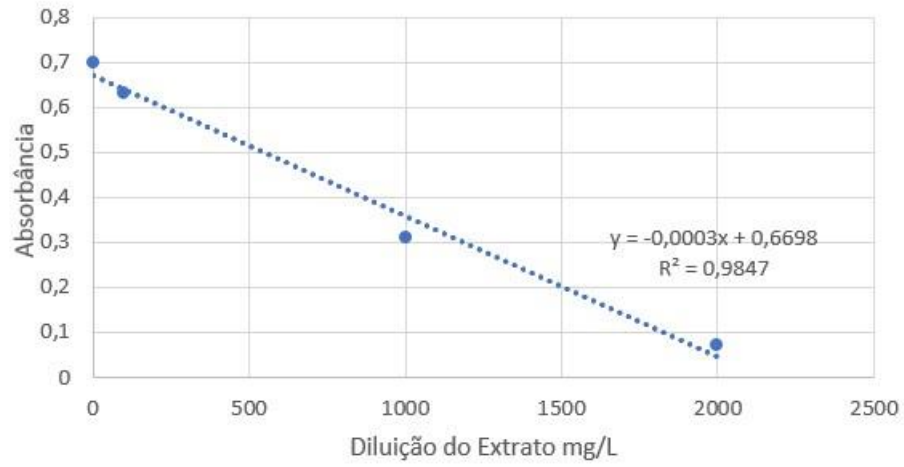


### Extrato Água Cascas

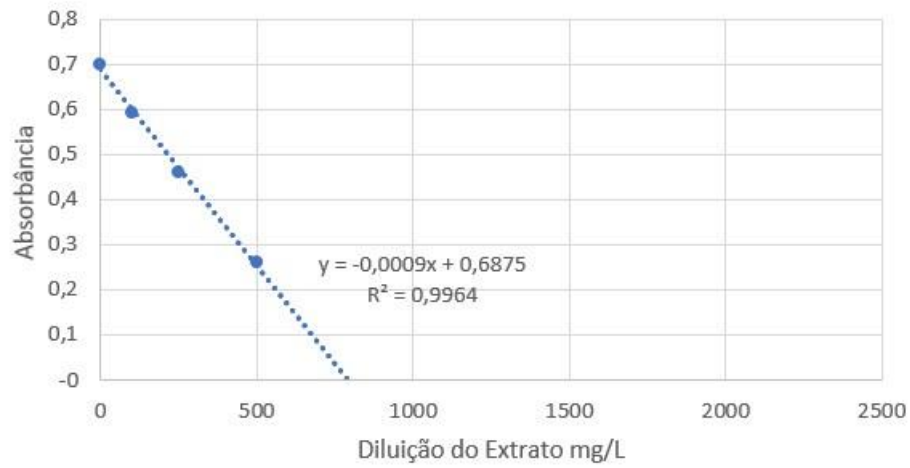


APÊNDICE B – CURVAS DE LINEARIDADE DO MÉTODO ABTS<sup>++</sup>

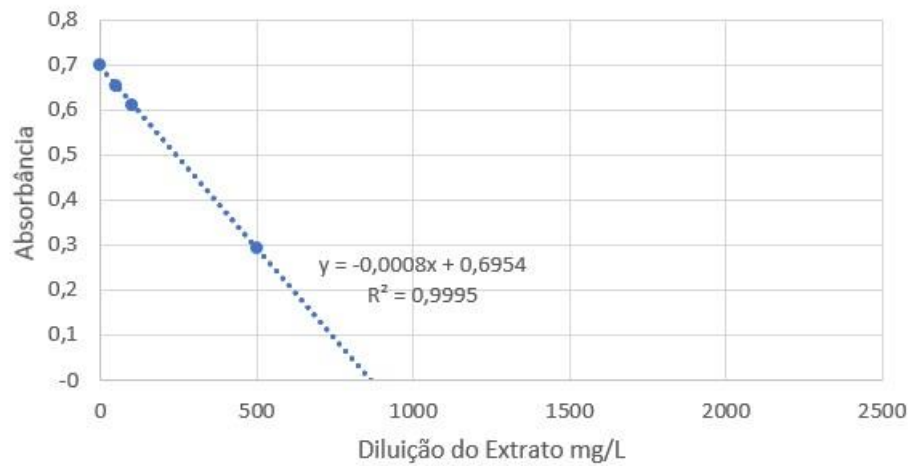
### Extrato Etanol Folhas



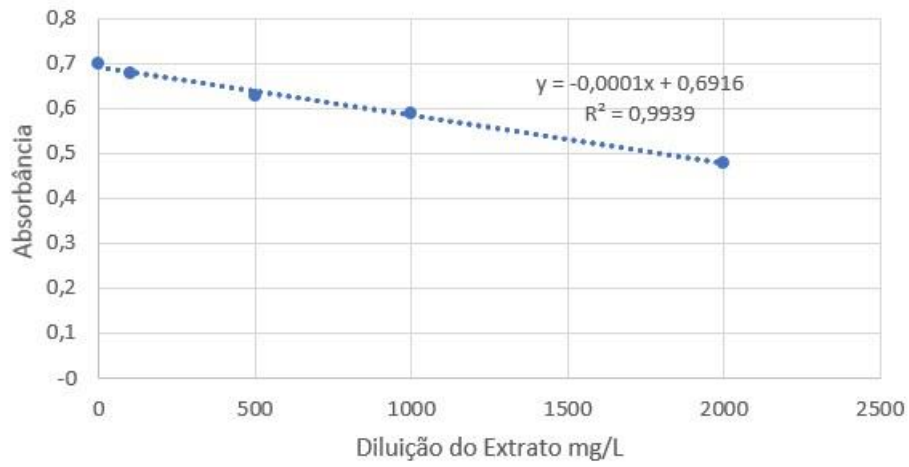
### Extrato Etanol Galhos



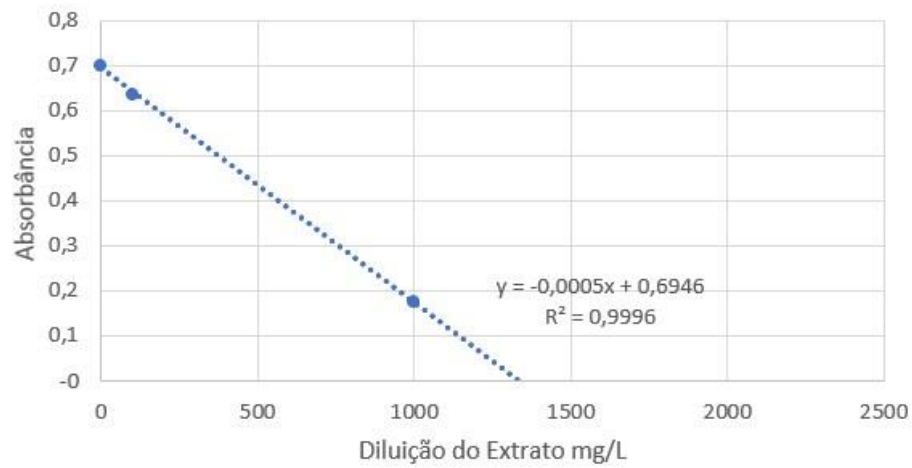
### Extrato Etanol Cascas



### Extrato Água Folhas



### Extrato Água Galhos



### Extrato Água Cascas

