

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

JOYCE ANNE COLTRO

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO DECOCTO DE *Campomanesia guazumifolia* (CAMBESS.) O. BERG. (MYRTACEAE)

DOURADOS

2016

JOYCE ANNE COLTRO

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO DECOCTO DE *Campomanesia guazumifolia* (CAMBESS.) O. BERG. (MYRTACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação  
apresentado para obtenção do título de  
Bacharel em Biotecnologia.  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Universidade Federal da Grande Dourados  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvia Cristina Heredia Vieira

DOURADOS

2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

C724p Coltro, Joyce Anne

Perfil químico e atividade antioxidante do decocto de *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. (Myrtaceae) / Joyce Anne Coltro --  
Dourados: UFGD, 2016.

26f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Silvia Cristina Heredia Vieira

TCC (Graduação em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Guavira. 2. FRAP. 3. ABTS. 4. fitoquímica. 5. plantas medicinais. I.  
Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.**

JOYCE ANNE COLTRO

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO DECOCTO DE *Campomanesia guazumifolia* (CAMBESS.) O. BERG. (MYRTACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia na Universidade Federal da Grande Dourados, pela comissão formada por:

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia Cristina Heredia Vieira  
UEMS

---

Prof. Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira  
FACET – UFGD

---

Prof. Dr. Jonas da Silva Mota  
UEMS

Dourados, 16 de setembro de 2016.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pois sem Ele nada seria possível. Agradeço por Ele estar sempre ao meu lado, iluminando os meus passos e dando-me forças nos momentos de angústias e dificuldades.

Aos meus pais, José e Rita, que sempre fizeram o melhor por mim, na capacidade de acreditar e investir em mim. Mesmo pela distância, sempre me deram imenso apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, e sempre me auxiliando e aconselhando.

Às minhas irmãs, Jéssica e Jaíne, pelo incentivo direto ou indireto; que por mais difíceis que fossem as circunstâncias, sempre tiveram paciência e compreensão.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvia Cristina Heredia Vieira, por permitir que fizesse parte de seu grupo de pesquisa, pelos conhecimentos transmitidos, pela orientação, pela paciência e compreensão. Agradeço pelas palavras de otimismo e incentivo nos momentos complicados. Simplesmente muito obrigada por tudo!

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Andrea Lima Cardoso, por ter me aceitado no CERNA e de alguma forma ter confiado em mim.

Ao aluno Nikollas Benites, por tudo o que ele me ensinou e ajudou desde os primeiros dias no laboratório até os últimos dias, sempre incansável me atendia e respondia minhas incansáveis dúvidas, sempre, mas sempre disposto a ajudar.

A todos os funcionários do CERNA, da UEMS e da UFGD, principalmente do curso de Biotecnologia que, direta ou indiretamente, cooperaram para o bom andamento deste trabalho.

Aos colegas da turma de graduação, Viviane, Rafaela e Romário, pela amizade, pelos grupos de estudos e pelos momentos de descontração.

Ao CNPq, pela oportunidade de realizar uma Iniciação Científica, mesmo sem apoio financeiro para desenvolvimento deste projeto.

*“Não deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém...  
Se você quiser alguém em quem confiar, confie em si mesmo.  
Quem acredita sempre alcança.”*

(Renato Russo)

## RESUMO

*Campomanesia guazumifolia* é uma espécie utilizada na medicina popular para o tratamento de diarreias, doenças hepáticas e, pelos índios, como tônica, sendo suas folhas ricas em taninos e saponinas. Os objetivos do trabalho foram obter o extrato bruto das folhas da *C. guazumifolia*, por decocção, estabelecer o perfil químico do extrato obtido, purificar a fração n-butanólica e determinar o potencial antioxidante. Os resultados obtidos evidenciaram um rendimento de 10,17% para o extrato aquoso avaliado e, pela triagem fitoquímica, foi possível observar a presença de saponinas, flavonoides, taninos, esteróides/triterpenos e ausência de alcalóides. O fracionamento da fração n-butanólica levou a 69 sub-frações, sendo que 3 grupos dessas sub-frações - 1-10 (grupo 1, 25,1 mg), 12-14 (grupo 3, 11,1 mg) e 15-19 (grupo 4, 15,1 mg), foram submetidos à purificação. Quanto à atividade antioxidante avaliada, ambos os métodos, FRAP e ABTS, confirmaram o potencial do extrato aquoso da *C. guazumifolia*. Pelo método FRAP, o extrato apresentou 102,38 ng de sulfato ferroso por µg de extrato e, pelo método ABTS, 81,08 ng de Trolox por µg de extrato.

**Palavras-chave:** Guavira, FRAP, ABTS, fitoquímica, plantas medicinais.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**AAT** - atividade antioxidante total

**ABTS** - 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico

**CCD** – cromatografia em camada delgada

**FRAP** – poder antioxidante de redução do ferro

**NP-PEG** - difenilaminoborato-polietilenoglicol

**TPTZ** – 2,4,6 – tris (2-piridil)-s-triazina

**TROLOX** – 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico

**UV** – ultravioleta



## SUMÁRIO

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2</b>     | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....                              | <b>2</b>  |
| <b>3</b>     | <b>OBJETIVOS</b> .....  | <b>4</b>  |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS</b> .....  | <b>4</b>  |
| <b>4.1</b>   | Materiais.....  | <b>4</b>  |
| <b>4.2</b>   | Reagentes.....  | <b>4</b>  |
| <b>5</b>     | <b>METODOLOGIA</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>5.1</b>   | Coleta e processamento do material vegetal.....                 | <b>5</b>  |
| <b>5.2</b>   | Extração por decocção.....                                      | <b>6</b>  |
| <b>5.3</b>   | Triagem química.....  | <b>6</b>  |
| <b>5.3.1</b> | Teste para Alcaloides.....                                      | <b>6</b>  |
| <b>5.3.2</b> | Testes para Saponinas.....                                      | <b>7</b>  |
| <b>5.3.3</b> | Teste para Flavonoides.....                                     | <b>7</b>  |
| <b>5.3.4</b> | Teste para Taninos.....   | <b>7</b>  |
| <b>5.3.5</b> | Teste para Esteroides/Triterpenos.....                          | <b>7</b>  |
| <b>5.4</b>   | Fracionamento do extrato aquoso.....                            | <b>8</b>  |
| <b>5.5</b>   | Purificação da fração, isolamento e caracterização química..... | <b>9</b>  |
| <b>5.6</b>   | Determinação do potencial antioxidante.....                     | <b>10</b> |
| <b>5.6.1</b> | Método FRAP.....  | <b>10</b> |
| <b>5.6.2</b> | Método ABTS.....  | <b>12</b> |
| <b>6</b>     | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                             | <b>13</b> |
| <b>6.1</b>   | Estudos químicos.....   | <b>13</b> |
| <b>6.1.1</b> | Extração.....   | <b>13</b> |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 6.1.2 | Triagem cromatográfica.....                 | 14 |
| 6.2   | Determinação do potencial antioxidante..... | 17 |
| 6.2.1 | Método FRAP.....                            | 17 |
| 6.2.2 | Método ABTS.....                            | 19 |
| 7     | <b>CONCLUSÃO</b> .....                      | 19 |
|       | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....     | 20 |

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização das plantas medicinais, na maioria das vezes são, o único recurso terapêutico utilizado por muitas comunidades. O uso popular de plantas no tratamento, em substituição à medicina, é tão antigo quanto à espécie humana, sendo fundamentado no acúmulo de informações repassadas oralmente. Ainda nos dias atuais as plantas medicinais são comercializadas em mercados populares, feiras livres e também disseminadas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002).

As plantas medicinais têm sido uma abundante fonte para extração de substâncias para fins terapêuticos e inúmeras substâncias já isoladas são fontes de medicamentos no tratamento de diferentes enfermidades (SILVA, 2004), como é o caso das chalconas 2', 4'-diidroxí-3', 5'-dimetil-6'-metoxichalcona e 2', 4'-diidroxí, 5'-metil-6'-metoxichalcona, isoladas da *Campomanesia pubescens* e que apresentaram efeito antiproliferativo contra células cancerosas (CARDOSO, 2013).

No Brasil, a ampla utilização de plantas para fins medicinais é devido, principalmente, ao elevado número de espécies vegetais encontradas no país. Por isso, houve nos últimos anos, um aumento da produção industrial de fitoterápicos e, também, de cultivos caseiros (REVILLA, 2002).

O Bioma Cerrado é o segundo maior Bioma brasileiro em extensão geográfica. Ocupa uma área de aproximadamente 206 milhões de hectares (PEREIRA et al., 1997), englobando parte de onze estados brasileiros, dentre eles, o Mato Grosso do Sul (EITEN, 1993). Esse Bioma possui uma das maiores riquezas naturais brasileiras, sendo descritas mais de 6.000 plantas vasculares, com alta diversidade em espécies vegetais para uso medicinal, mas, muitas delas, inexploradas pelo âmbito científico (MENDONÇA et al., 1998; SANO; ALMEIDA, 1998).

Dentre as inúmeras espécies frutíferas nativas do Cerrado, encontra-se o gênero *Campomanesia*, compreendendo 25 espécies de plantas arbustivas que se distribuem por várias regiões, como no Uruguai e norte da Argentina até a ilha de Trinidad, e da região litorânea do Brasil até os Andes, no Peru, Equador e Colômbia (MARCHIORI, 1998).

Estudos fitoquímicos evidenciaram a presença de diferentes classes de compostos no gênero *Campomanesia*, como flavonoides e taninos que foram identificados na *C. xanthocarpa* (MARKMAN et al., 2004), além disso tem-se estudos que comprovam os potenciais de uso do gênero. Coutinho et al. (2008 e 2010) comprovaram atividade

antioxidante para as folhas da *C. adamantium*. Para os frutos de *C. xanthocarpa* foi comprovada atividade antiproliferativa e proteção às células de levedura nos ensaios da atividade antioxidante *in vivo* (HAAS, 2011).

Há, também, na literatura, estudos que demonstram efeito positivo à saúde e bem estar das pessoas, devido à contribuição de alto teor de antioxidantes presentes nas plantas, o qual restringe os riscos de doenças cardiovasculares e até mesmo alguns tipos de câncer. Neste contexto, os objetivos do estudo foram realizar uma caracterização fitoquímica das folhas da *Campomanesia guazumifolia* e determinar o potencial antioxidante da espécie.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A família Myrtaceae abrange cerca de 142 gêneros e mais de 5.500 espécies de árvores e arbustos (STADNIK, 2016) e é encontrada em regiões tropicais, subtropicais e marítimas (LANDRUM, 1986).

Myrtaceae é uma das famílias com maior relevância na flora brasileira, sendo representada por 23 gêneros e 1025 espécies, as quais se encontram em diferentes formações vegetais brasileiras (LANDRUM; KAWASAKI, 1997; FLORA DO BRASIL 2020, 2016). Plantas brasileiras desta família são caracterizadas por serem árvores lenhosas, porém, ineficazes quanto à produção de madeiras valiosas. Por outro lado, existem várias espécies frutíferas, as quais são comercializadas (MARCHIORI; SOBRAL, 1997).

No Brasil algumas espécies de Myrtaceae estão desvanecendo da natureza antes mesmo que se tenham estudos básicos de sua biologia e, com isso, têm sido encontradas na lista vermelha de espécies brasileiras ameaçadas de extinção (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

O Mato Grosso do Sul apresenta uma grande diversidade de plantas nativas e, dentre elas, estão as espécies do gênero *Campomanesia*, as quais são popularmente conhecidas como guavira (CRAGG et al., 1977). O gênero *Campomanesia*, pertencente à família Myrtaceae, ocorre em vegetação de Cerrado, Cerradão e Campo Sujo, possuindo 42 espécies nativas do Brasil (PEIXOTO et al., 2005; FLORA DO BRASIL 2020, 2016).

Plantas deste gênero são citadas na literatura pela infusão de suas folhas serem utilizadas, popularmente, como relaxantes musculares, por meio de banhos de imersão (VALLILO et al., 2006). Além disto, estudos científicos já realizados com o chá das folhas de

algumas espécies do gênero *Campomanesia* revelaram a presença de substâncias como flavonóides, taninos e saponinas (MARKMAN, 2002).

Atividades antiulcerogênica (MARKMAN et al., 2002), hipoglicemiante (BIAVATTI et al., 2004; VINAGRE et al., 2010), antimicrobiana (MADALOSSO et al., 2012) e anti-inflamatória (FERREIRA et al., 2013) já foram comprovadas cientificamente para espécies do gênero.

Na espécie *C. xanthocarpa*, estudos recentes revelaram a presença de flavonóides e ácidos fenólicos; para esta espécie também foi avaliado potencial anti-inflamatório e antioxidante (KLAFKE et al., 2016). Numa prospecção fitoquímica realizada por Abe et al. (2014), identificou-se a presença de flavonoides, antraquinonas, esteroides e/ou triterpenoides, heterosídeos antociânicos, saponinas, taninos, grupos amino e ácidos fixos nas folhas da *C. xanthocarpa*; também foi comprovado potencial antioxidante.

Para as folhas de *C. adamantium*, foi relatada alta atividade antioxidante, a qual foi associada à presença de compostos fenólicos na planta (COUTINHO et al., 2008; COUTINHO et al., 2010). Pascoal (2012) relata presença das chalconas 2',4'-diidroxí-6'-metoxichalcona, 2',4'-diidroxí-5'-metil-6'-metoxichalcona e 2',4'-diidroxí-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona e dos flavonoides isoquercitrina, quercitrina, quercetina e miricetina nas folhas dessa espécie. Além disto, o autor comprovou atividades antioxidante e antiproliferativa para a *C. adamantium*, as quais foram relacionadas com a presença dos flavonoides na espécie.

Segundo trabalho desenvolvido por Guerreiro et al. (2010), a *C. pubescens* possui efeito anti-inflamatório. Também foi avaliada a atividade antioxidante e teores de compostos fenólicos (ROCHA, 2011). Cardoso et al. (2014) evidenciou a presença de flavonoides e chalconas nas folhas de *C. pubescens*, além de a espécie ter sido novamente descrita por apresentar potencial antioxidante.

A espécie *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg, popularmente conhecida como sete-capotes, sete-capas ou capoteira, é utilizada na medicina popular no tratamento de diarreia e doenças hepáticas. No entanto, são escassos estudos que descreveram as substâncias químicas dessa espécie e o uso delas no âmbito medicinal (BRANDÃO, 1991; DORIGONI et al., 2001).

Limberger et al. (2001) citam que o óleo essencial obtido das folhas da *C. guazumifolia* é rico em sesquiterpenos. Por outro lado, estudo realizado por Schmeda-Hirschmann (1995), com as folhas desta mesma espécie, evidenciou a presença de flavonóides, como a miricitrina e a quercetina.

Em experimento desenvolvido por Arruda (2013), visando á avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico bruto e frações acetato de etila da *C. guazumifolia* foi possível evidenciar, pelo método DPPH, alto potencial antioxidante para as frações provenientes tanto de folha quanto de caule. Além disto, o autor isolou da fração acetato de etila da folha o flavonoide miricitrina, uma substância citada na literatura por seu potencial antioxidante.

### **3 OBJETIVOS**

- Obter o extrato aquoso das folhas de *C. guazumifolia*;
- Traçar o perfil químico do extrato obtido;
- Fracionar e purificar o extrato bruto;
- Determinar o potencial antioxidante da espécie.

### **4 MATERIAIS**

#### **4.1 Materiais**

- Estufa (Tecnal<sup>®</sup>)
- Chapa de aquecimento (Fornos Magnu's<sup>®</sup>)
- Liofilizador (Christ<sup>®</sup>)
- Espectrofotômetro UV-visível com varredura (Global Trade Technology<sup>®</sup>)
- Agitador magnético (Nova Ética<sup>®</sup>)
- Coluna vidro (45 cm x 1 cm)
- Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>)
- Placas de sílica gel 60 (Macrerey-Nagel<sup>®</sup>) (20 X 20 cm) de fase normal
- Placas de sílica gel 60 (Macrerey-Nagel<sup>®</sup>) (20 X 20 cm, 0,25 mm)

#### **4.2 Reagentes**

- BAW 65:25:15 (*n*-butanol, ácido acético e água 13:5:3 v/v/v)
- Quaternário (água, *n*-propanol, metanol e clorofórmio 25:6:38:31 v/v/v/v)

- Dragendorff (solução de iodeto de bismutato de potássio)
- NP-PEG (difetilboriloxietilamina 1,0% em metanol e solução de polietilenoglicol 4000 5,0% em etanol)
- Oleum (água destilada, ácido sulfúrico e ácido acético)
- Hidróxido de sódio
- Clorofórmio P.A. Synth
- Sulfato de sódio anidro
- Ácido clorídrico 1%
- Reagente de Mayer (iodo mercurato de potássio)
- Magnésio
- Solução alcoólica de FeCl<sub>3</sub> 1%
- Anidrido acético
- Ácido sulfúrico concentrado P.A Vetec
- Metanol P.A Vetec
- Tampão acetato 0,3 M
- TPTZ 10 mM
- Acetato de sódio
- Ácido acético glacial
- Ácido clorídrico 40 mM
- Cloreto férrico (cloreto férrico 3,0% em etanol)
- Sulfato ferroso
- ABTS 7 mM
- Persulfato de potássio  $\mu$ M
- Acetato de etila P.A ACS Vetec
- Álcool (n)-butílico P.A. Synth
- Trolox.

## **5 METODOLOGIA**

### **5.1 Coleta e processamento do material vegetal**

As folhas de *C. guazumifolia* foram colhidas aleatoriamente em plantas de populações naturais, coletadas em área nativa de Cerrado, na fazenda situada no Município de Amambai

(S 22° 12.214' e W 54° 48.538', a 1390 m de altitude), localizada em Mato Grosso do Sul. A espécie foi identificada pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Zefa Valdivina Pereira, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados-MS, e uma exsiccata foi depositada no Herbário DDMS (Dourados-MS) sob número 4746.

As folhas foram secas em estufa de ar circulante a  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  e, em seguida, trituradas em moinho tipo Wiley.

\*Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico - Número: 39451-1 (MMA/ICMBio/SISBIO).

## **5.2 Extração por decocção**

O extrato aquoso foi obtido pelo processo de decocção seguindo metodologia descrita por Vinagre et al. (2010). Para isso, foi pesada uma porção de 5 g do material vegetal seco e moído, e este foi colocado em contato com 250 mL de água destilada. Em seguida, submeteu-se a mistura obtida em chapa de aquecimento até ebulição, após atingir o ponto de ebulição, cronometraram-se 10 min. O material foi deixado à temperatura ambiente para resfriamento e, com o auxílio de um funil de vidro, o extrato foi filtrado com algodão. Após a extração, o extrato foi liofilizado para completa remoção da água e o rendimento foi calculado.

## **5.3 Triagem química**

O extrato aquoso obtido foi submetido à triagem cromatográfica por cromatografia em camada delgada (CCD) (WAGNER & BLADT, 2001), utilizando-se placas de sílica gel 60 com indicador UV<sub>254</sub> (Macherey-Nagel<sup>®</sup>, 5 x 5 cm, 0,20 mm). Para isso, foram testados diferentes sistemas de eluentes (BAW e Quaternário) para a CCD e utilizados diversos reveladores (UV, Dragendorff, NPPEG e OLEUM). Foram realizados ainda testes em tubos de ensaio para identificação de alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos e esteroides/triterpenos (MATOS, 2009).

### **5.3.1 Teste para Alcaloides**

Um volume de 2 mL do extrato aquoso foi transferido para um tubo de ensaio, em seguida, efetuou-se a alcalinização com quinze gotas de hidróxido de sódio a 1% e



acrescentou-se de 2 mL de água destilada e mais 2 mL de clorofórmio. A fração aquosa foi desprezada e, então, adicionou-se a fração clorofórmica quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, sendo, em seguida, efetuando uma extração com 2 mL de água. Essa fração clorofórmica foi desprezada e os testes foram realizados com a fração aquosa ácida. Essa fração final em dois tubos de ensaio, sendo, no primeiro, acrescentadas três gotas do reagente de Dragendorff e, no segundo, três gotas do reagente Mayer, para a verificação da presença de alcaloides.

### **5.3.2 Teste para Saponinas**

Em um tubo de ensaio foram adicionados 2 mL do extrato aquoso, 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada e, em seguida, a solução foi filtrada para um novo tubo de ensaio. Agitou-se a solução constantemente por 3 min.

### **5.3.3 Teste para Flavonoides**

Realizou-se o teste de cianidina ou Shinoda (HCl concentrado e magnésio). Adicionaram-se, em um tubo de ensaio, 2 mL do extrato aquoso, aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita e 2 mL de HCl concentrado.

### **5.3.4 Teste para Taninos**

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL do extrato, diluído 1:6, adicionaram-se três gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  preparada a 1%, agitando fortemente, observou-se qualquer variação de cor.

### **5.3.5 Teste para Esteroides/Triterpenos**

Os testes para Esteroides/Triterpenoides foram realizados pela reação de Liebermann-Burchard (1 mL de anidrido acético + 1 mL ácido sulfúrico concentrado), tomando 2 mL do extrato filtrado e adicionando-se 2 mL de clorofórmio. A solução clorofórmica foi filtrada em funil contendo algodão coberto com alguns decigramas de sulfato de sódio anidro. Em tubo de ensaio, adicionou-se 1 mL de anidrido acético, agitando suavemente, e acrescentaram-se três

gotas de ácido sulfúrico concentrado, agitando suavemente e observando se haveria desenvolvimento de cores.

#### 5.4 Fracionamento do extrato aquoso

O extrato aquoso obtido das folhas de *C. guazumifolia* foi submetido à extração líquido-líquido utilizando-se solventes por ordem de polaridade (acetato de etila e n-butanol). Para isso, um volume de 100 mL do extrato foi submetido à extração utilizando-se 50 mL de cada um dos solventes, sendo o procedimento realizado em 3 extrações sucessivas. O processo resultou em três frações: acetato de etila, n-butanólica e aquosa, sendo estas então submetidas à secagem e à liofilização. Os rendimentos foram calculados, e as frações analisadas por CCD utilizando-se como fases móveis: 1) BAW e 2) Quaternário. As placas cromatográficas foram reveladas com Oleum e sob luz ultravioleta (254 e 366 nm).

A fração n-butanólica (200 mg) foi solubilizada com 3,0 mL de metanol e submetida ao fracionamento por Cromatografia de Sephadex LH-20, sendo a coluna eluída com metanol. Foram obtidas 69 sub-frações de 2 mL aproximadamente, cada. Em seguida, todas as sub-frações foram analisadas por cromatografia comparativa em camada delgada em placas de sílica gel e, então, reunidas em 16 grupos de acordo com as características químicas observadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Grupos obtidos do fracionamento da fração n-butanólica e suas respectivas massas.

| Identificações das frações (grupos) | Massa (mg) |
|-------------------------------------|------------|
| 1-10* (1)                           | 25,1       |
| 11 (2)                              | 6,1        |
| 12-14* (3)                          | 11,1       |
| 15-19* (4)                          | 8,1        |
| 20 (5)                              | 2,0        |
| 21-22 (6)                           | 3,6        |
| 23 (7)                              | 1,7        |
| 24-25 (8)                           | 2,2        |
| 26-29 (9)                           | 16,1       |
| 30-31 (10)                          | 4,0        |
| 32-33 (11)                          | 2,7        |
| 34-50 (12)                          | 13,9       |
| 51 (13)                             | 1,7        |
| 52-57 (14)                          | 4,4        |
| 58-69 (15)                          | 14,0       |
| Fase limpeza (16)                   | 63,8       |

\*As sub-frações foram submetidas à purificação em camada delgada preparativa para isolamento de substâncias químicas.

### 5.5 Purificação da fração, isolamento e caracterização química

Foram selecionados 3 grupos de sub-frações: 1-10 (grupo 1, 25,1 mg), 12-14 (grupo 3, 11,1 mg) e 15-19 (grupo 4, 15,1 mg), sendo considerados para a escolha dos grupos as características químicas das amostras e os rendimentos obtidos. Cada uma das amostras escolhidas foi submetida à purificação por Cromatografia em Camada Delgada Preparativa. As placas (sílica gel 60 com indicador de UV<sub>254</sub>, Macrerey-Nagel®, 20 X 20 cm, 0,25 mm) foram eluídas com Quaternário. As manchas visualizadas em luz UV a 254 nm ou após revelação com OLEUM foram retiradas das placas com o auxílio de uma espátula. Em seguida, foram lavadas com 3 mL de metanol, centrifugadas e o sobrenadante retirado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de vidro. O procedimento foi repetido 5 vezes, e as amostras foram secas à temperatura ambiente e os rendimentos calculados (Tabela 2, 3 e 4).

Tabela 2 - Manchas da Placa preparativa da fração n-butanólica 1-10

| Identificação das manchas | Massa (mg) |
|---------------------------|------------|
| 1                         | 1,8        |
| 2                         | 3,5        |
| 3                         | 2,9        |
| 3.1                       | 2,1        |
| 4                         | 4,2        |
| 5                         | 3,2        |
| 6                         | 3,1        |
| 7                         | 4,2        |

Tabela 3 - Manchas da Placa preparativa da fração n-butanólica 12-14

| Identificação das manchas | Massa (mg) |
|---------------------------|------------|
| 1                         | 1          |
| 2                         | 4,4        |
| 2.1                       | 2,2        |
| 3                         | 7,1        |
| 4                         | 2,3        |
| 5                         | 4,4        |
| 6                         | 2,1        |
| 7                         | 3,0        |

Tabela 4 - Manchas da Placa preparativa da fração n-butanólica 15-19

| Identificação das manchas | Massa (mg) |
|---------------------------|------------|
| 1                         | 1,2        |
| 2                         | 2,5        |
| 3                         | 2,4        |
| 4                         | 4,2        |
| 5                         | 3          |
| 6                         | 3,1        |
| 6.1                       | 2,8        |
| 7                         | 3,1        |

Todas as amostras obtidas na purificação realizada por CCD preparativa foram enviadas para a Universidad de Cádiz – UCA, na Espanha, para serem identificadas por meio de métodos espectroscópicos, incluindo técnicas bidimensionais e ultravioleta.

## 5.6 Determinação do potencial antioxidante

### 5.6.1 Método FRAP

A atividade antioxidante pelo método FRAP foi realizada de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2006). Os extratos foram preparados com metanol. O reagente FRAP foi obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de 2,4,6-tri (2-piridil) -1-3-5-triazina de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, devendo ser usado imediatamente após sua preparação.

Uma solução tampão acetato 0,3 M, pH 3,6, foi preparada dissolvendo-se 3,1 g de acetato de sódio em 16 mL de ácido acético glacial. O volume foi completado para 1L em balão volumétrico com água destilada, homogeneizado, transferido para um frasco de vidro âmbar devidamente etiquetado e armazenado em temperatura ambiente.

Para o preparo da solução TPTZ 10 mM, dissolveram-se 3,12 g de TPTZ em, aproximadamente, 5 mL de HCl 40 mM e completou-se o volume para 1 L em um balão volumétrico com HCl 40 mM, homogenizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar devidamente etiquetado. Armazenou-se sob refrigeração. Para o preparo da solução de cloreto férrico 20 mM, dissolveram-se 5,4 g de cloreto férrico em água destilada e completou-se o volume para 1L em um balão volumétrico com água destilada, homogenizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar devidamente etiquetado.

Foram preparadas diferentes diluições do sulfato ferroso (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 mM) em triplicata. Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 90 µL de cada uma das diluições para tubos de ensaio e, em seguida, acrescentaram-se 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP em cada um dos tubos. Os tubos foram homogeneizados em agitador magnético e mantidos em banho-maria a 37°C por 30 min. Realizaram-se as leituras das absorbâncias das soluções preparadas em espectrofotômetro a 595 nm. Utilizou-se o reagente FRAP como branco.

O mesmo procedimento descrito acima foi empregado para o extrato, porém, utilizando-se apenas a concentração de 20,0 µg/mL.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições do sulfato ferroso, calculou-se a equação da reta a partir das concentrações de sulfato ferroso (mM) e das absorbâncias obtidas. Para o preparo da solução padrão de sulfato ferroso 2 mM, dissolveram-se 27,8 mg de sulfato ferroso em água destilada e completou o volume para 50 mL em um balão volumétrico com água destilada, homogeneizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar devidamente etiquetado.

Para o cálculo da Atividade Antioxidante Total (AAT), substituiu-se na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000 µM do padrão sulfato ferroso. O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 µM de sulfato ferroso.

Absorbância correspondente a 1.000 µM de Sulfato Ferroso

$$y = ax + b$$

Onde,

y = Absorbância correspondente a 1.000 µM de sulfato ferroso

x = Diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 µM de sulfato ferroso

A partir do resultado encontrado (x), dividiu-se por 1.000 para ter o valor em g. O resultado final foi calculado pela divisão de 1.000 (µM pelo valor de X (g)) e multiplicado por 1 (g) para encontrar o valor final (Z) que foi expresso em µM sulfato ferroso/g de extrato.

Cálculo final expresso em (µM Sulfato ferroso / g)

$$X(g) = x / 1.000$$

$$Z = 1.000 / X (g).1$$

### 5.6.2 Método ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi determinada seguindo metodologia descrita por Rufino et al. (2006). A atividade foi avaliada através da reação de 5 mL da solução estoque do ABTS (7 mM) com 88 µL da solução de persulfato de potássio 2,45 µM. O sistema foi mantido em repouso, à temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), durante 16 h em ausência de luz. Em seguida, diluiu-se 1 mL desta mistura em etanol até obter um valor de absorvância entre 700 a 705 nm.

Foram preparadas cinco diferentes concentrações do padrão Trolox (100, 500, 1000, 1500 e 2000 mM). Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada diluição do padrão para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do radical ABTS<sup>+</sup>. Homogeneizou-se em agitador magnético e, após 6 min, realizou-se a leitura das absorvâncias em espectrofotômetro a 734 nm utilizando o álcool etílico, como branco. As concentrações de Trolox (µM) foram plotadas no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y, sendo a equação da reta calculada. Para o preparo da solução padrão de Trolox 2 mM, dissolveram-se 25 mg de Trolox em álcool etílico e completou-se o volume para 50 mL em um balão volumétrico com álcool etílico, homogeneizou-se e transferiu-se para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado.

O mesmo procedimento descrito acima foi empregado para o extrato, porém, utilizando-se apenas a concentração de 20,0 (µg/mL), sendo também utilizado álcool etílico como branco.

Para o cálculo da Atividade Antioxidante Total (AAT), substituiu-se na equação da reta a absorvância equivalente a 1.000 µM do padrão Trolox. O valor obtido para o termo x correspondeu à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 µM de Trolox.

Absorvância correspondente a 1.000 µM de Trolox

$$y = -ax + b$$

onde:

x = 1.000 µM do Trolox

y = absorvância correspondente a 1.000 µM de Trolox

Cálculo das diluições do extrato (mg/mL) equivalente a 1.000 uM de Trolox

$$y = -ax + b$$

onde:

y = Absorbância correspondente a 1.000  $\mu\text{M}$  de Trolox

x = Diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000  $\mu\text{M}$  de Trolox

A partir dos resultados encontrados (x), dividiu-se por 1.000 para obter o valor em g. O resultado final foi calculado pela divisão de 1.000 ( $\mu\text{M}$ ) pelo valor de X (g) e multiplicado por 1 (g) para encontrar o valor final (Z) que foi expresso em  $\mu\text{M}$  Trolox / g de extrato.

Cálculo final expresso em ( $\mu\text{M}$  Trolox / g)

$$X (\text{g}) = x / 1.000$$

$$Z = 1.000 / X (\text{g}) .1$$

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Estudos químicos

#### 6.1.1 Extração

O rendimento do extrato aquoso, obtido por decocção, das folhas da *C. guazumifolia* foi de 10,17%, com uma concentração de 2034  $\mu\text{g/mL}$ . Rendimento similar foi determinado para o extrato aquoso da *C. xanthocarpa* (10,37%) (PIRES, 2014). O autor também avaliou os extratos etanólico e hidroalcoólico das folhas dessa espécie e observou rendimentos de 6,90% e 15,26%, respectivamente.

Em estudo desenvolvido por Madalosso et al. (2012), com o extrato etanólico, obtido por percolação, das folhas de *C. lineatifolia*, o rendimento extrativo foi de 23,6%, o que pode ser considerado alto. Por outro lado, Cardoso et al. (2008), avaliando o extrato hexânico obtido por maceração das folhas de *C. pubescens*, obteve um rendimento de cerca de 0,92%, rendimento bastante inferior aos determinados nos outros trabalhos.

Os diferentes rendimentos observados nos trabalhos analisados e neste trabalho estão diretamente relacionados aos diversos métodos extrativos existentes e também aos diversos solventes que podem ser utilizados nos experimentos. Assim, deve-se ter o conhecimento das

melhores condições que levarão a uma extração eficaz de substâncias (SIMÕES et al., 2007), antes de se realizar uma extração.

### 6.1.2 Triagem cromatográfica

A triagem cromatográfica por CCD do extrato de *C. guazumifolia* avaliado sugeriu a presença de flavonoides (Figura 1A e 1B) e taninos (Figura 1A), evidenciados pelas manchas de coloração amarela e marrom, respectivamente (WAGNER; BLADT, 2001). A placa cromatográfica revelada com Dragendorff sugeriu a ausência de alcaloides no extrato avaliado (Figura 1C).

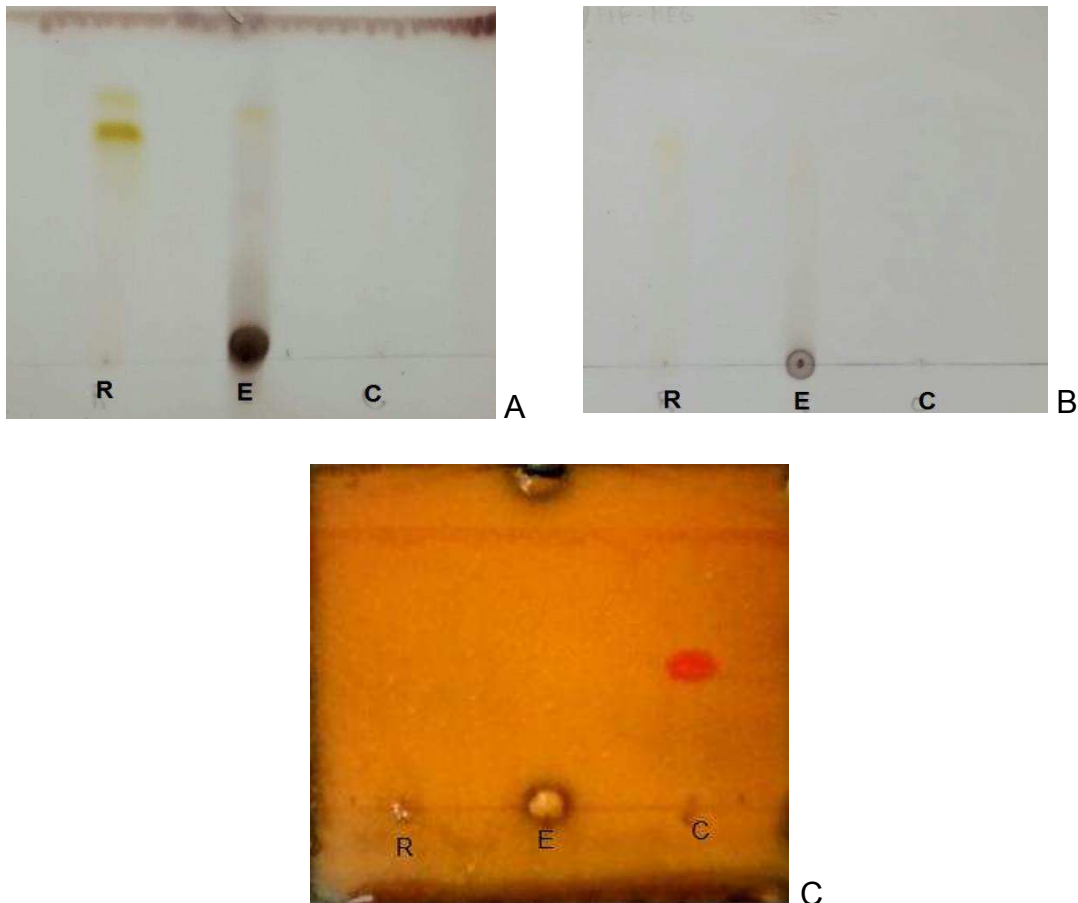


Figura 1 – Triagem cromatográfica por CCD do extrato aquoso com os reveladores Oleum (A), NPPEG (B) e Dragendorff (C) (R = Rutina, E = Extrato aquoso, C = Cafeína; Silica gel, Fase móvel: Quaternário 25:6:38:31 v/v/v/v).



Testes em tubos de ensaio confirmaram a presença de saponinas (formação de espuma persistente) (Figura 2A), flavonoides (coloração de pardo a vermelho) (Figura 2B), taninos (coloração azul escura quase preta) (Figura 2C), esteroides/triterpenos (coloração verde azulado) (Figura 2D) e a ausência de alcaloides (não aparecimento de precipitado) (Figura 2E).

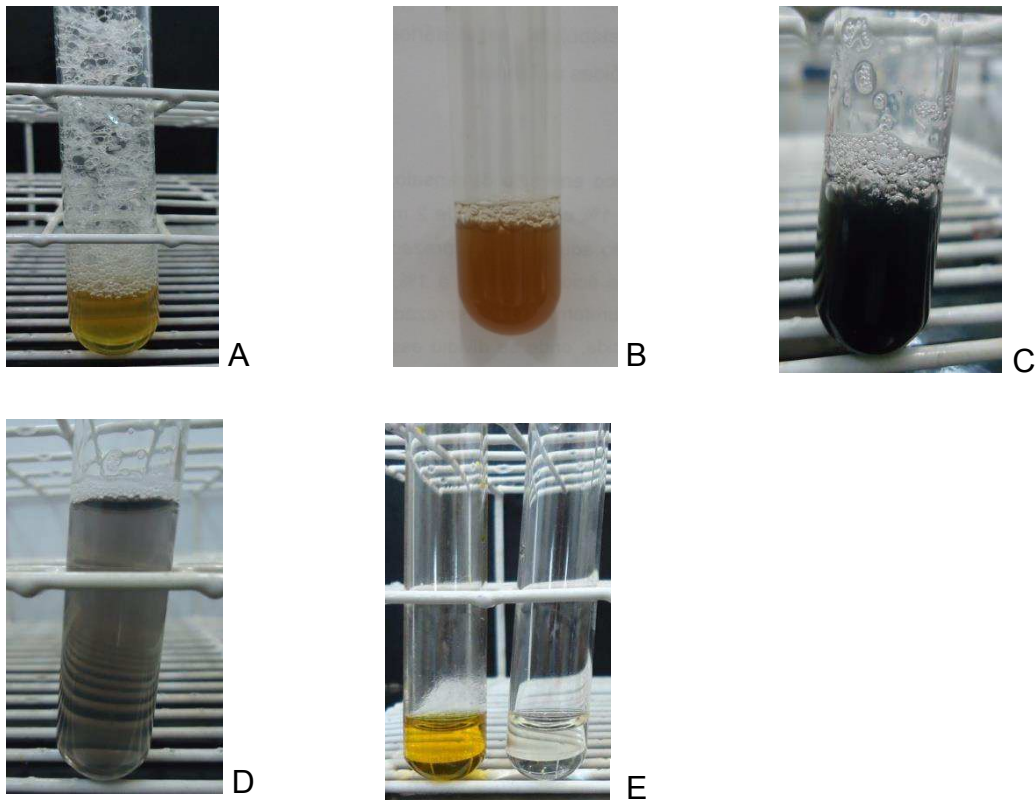


Figura 2 – Testes para determinação de saponinas (A), flavonoides (B), taninos (C), esteroides/triterpenos (D) e alcaloides (E).

A presença de saponinas em um material vegetal é confirmada por meio da característica física, onde há formação de espuma abundante e persistente, permanecendo, após agitação, uma coluna de espuma de pelo menos 1 cm durante 15 min no mínimo. Isso ocorre pelo fato de que as saponinas são substâncias tensoativas, capazes de diminuir a tensão superficial dos líquidos, ou seja, alteram as propriedades interfaciais e superficiais de um líquido, o que permite a agregação de ar quando agitados, designando a formação de espuma (SIMÕES et al., 2004).

A identificação da presença dos flavonoides se fundamenta na redução de compostos flavonoídicos de coloração amarela em compostos antociânicos de cor vermelho alaranjado ou vermelho-violeta, por meio do teste de cianidina ou Shinoda. A redução efetua-se em meio

ácido, em que se utiliza magnésio em fita como agente redutor e ácido clorídrico para tornar o meio ácido, ocorrendo o desprendimento de hidrogênio nascente e o aparecimento de coloração (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007; COSTA, 1996).

A presença de taninos hidrolisáveis foi confirmada por meio da observação da coloração azul escura característica, que ocorre por causa da interação química entre taninos e cloreto férrico. Os taninos hidrolisáveis constituem-se de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, sendo os grupos hidroxila do açúcar esterificados com os ácidos fenólicos (HELDT, 1997). Os taninos, por serem compostos fenólicos, são muito reativos quimicamente e formam ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. São facilmente oxidáveis, tanto por meio de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais, como cloreto férrico, o que ocasiona o escurecimento de suas soluções (MELLO, 2001).

A presença de esteroides/triterpenos foi evidenciada pela reação Liebermann-Burchard, que consiste no tratamento do extrato com anidrido acético em presença de ácido acético e ácido sulfúrico, ocorrendo, assim, a desidratação, seguida de oxidação do sistema de anéis do peridrociclopentanofenantreno formando um esteroide aromático que é comprovado pelo aparecimento de uma coloração verde azulada (BURKE, 1974; XIONG, 2007). Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteroides desenvolvem coloração mutável com o tempo.

Os esteroides são triterpenoides modificados, assim os triterpenos ( $C_{30}$ ) são formados pela união de duas moléculas de difosfato de farnesila (FPP) ( $C_{15}$ ) unidas cauda-cauda (DEWICK, 2002).

A provável presença de alcaloides numa espécie vegetal é verificada pela formação de complexos insolúveis (precipitados). Os alcaloides são substâncias de caráter básico, capazes de reagir com sais de metais pesados, que fazem parte da constituição dos reativos utilizados, como ocorre com os reagentes Mayer (solução de iodeto de potássio e cloreto de mercúrio) e Dragendorff (solução iodo-bismutato de potássio) provocando a formação de precipitados (SIMÕES et al., 2004).

No presente estudo foi observado resultado negativo para alcaloides, não havendo formação de precipitado, confirmando assim a ausência desta classe de metabólito secundário.

Também é válido ressaltar que pode haver a ocorrência de resultados falso-positivos, que são bastante comuns para essas reações. Desta forma, o material a ser analisado deve ser submetido à extração ácido/base, para confirmação da presença e extração dos alcaloides (SANTOS, 2003; SIMÕES et al., 2007).

Trabalhos descritos na literatura com espécies do gênero *Campomanesia* corroboram com os resultados obtidos neste estudo. Em análise realizada por Pires (2014), quem avaliou os extratos etanólico, hidroalcoólico e aquoso obtido pelo método de infusão das folhas de *C. xanthocarpa*, também foi evidenciada a presença de saponinas nos extratos. Madalosso et al. (2012) demonstraram a presença de flavonoides e taninos em folhas de *C. lineatifolia* Ruiz et Pav., com maior abundância na fração acetato de etila. Adati (2001) confirmou a presença de taninos, flavonoides e saponinas no extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *C. phaea* (O. Berg) Landrum e ausência de alcaloides. Arruda (2013) identificou, no extrato hidroalcoólico das folhas de *C. guazumifolia*, a presença de esteroides/triterpenos e saponinas. Por fim, Markman (2004), avaliando o extrato hidroalcoólico das folhas de *C. xanthocarpa*, detectou a presença de flavonoides, taninos e saponinas, e verificou ausência de alcaloides.

Arruda (2013) preparou, por maceração, os extratos aquoso e hidroalcoólico, ambos a 20% (m/v), tanto da folha quanto do caule de *C. guazumifolia*, e evidenciou, em ambos os extratos, a presença de esteroides/triterpenos e saponinas. De maneira complementar, o extrato de folha revelou taninos, enquanto que o de caule apresentou leucoantocianidinas, uma classe de flavonoides. Com base no exposto, os resultados obtidos nesse estudo para *C. guazumifolia* são condizentes àqueles descritos na literatura para espécies do gênero.

## **6.2 Determinação do potencial antioxidante**

### **6.2.1 Método FRAP**

O poder antioxidante por redução do íon férrico (FRAP) foi avaliado para o extrato aquoso de *C. guazumifolia*. A Figura 3 representa a curva de calibração do sulfato ferroso, substância utilizada como padrão.

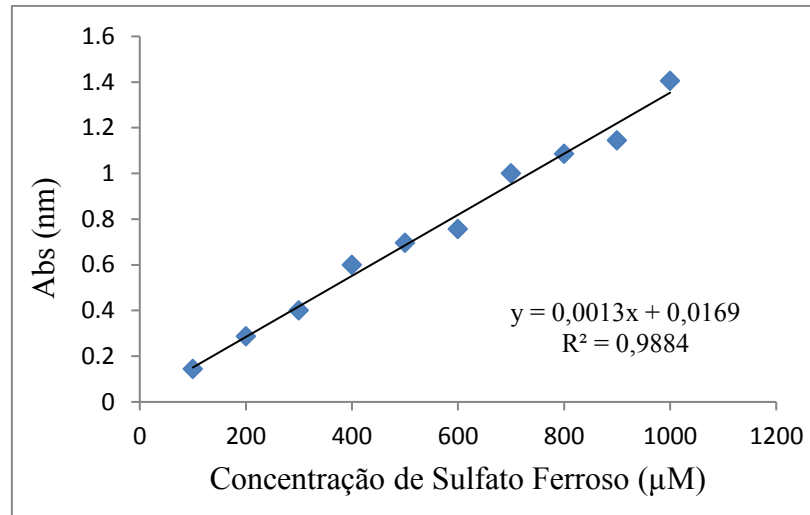


Figura 3 - Curva de calibração na determinação do poder antioxidante pelo método FRAP.

A partir da curva de calibração da substância padrão, calculou-se o potencial antioxidante do extrato avaliado sendo de 102,38 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$  de extrato. Comparando-se com trabalho desenvolvido por Rosa (2013), a atividade antioxidante das folhas de *C. guazumifolia* determinada neste trabalho pode ser considerada alta. A autora avaliou o potencial de diferentes frutos do Cerrado pelo método FRAP e evidenciou valores que variaram de 0,11 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$  de fruto (Jatobá) a 9,04 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$  de fruto (Tucum). Por outro lado, quando comparou-se o resultado com trabalho descrito por Moraes et al. (2013), em que também foram avaliadas diferentes espécies do Cerrado Brasileiro, observou-se que a *C. guazumifolia* apresentou resultados superiores aos determinados para as sementes de *Solanum lycocarpum* (28,4 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$ ), polpa de *Byrsonima verbascifolia* (25,2 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$ ), epicarpo de *Caryocar brasiliense* (2,54 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$ ) e pendúculo de *Cipocereus minensis* (25,7 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$ ), porém, a atividade antioxidante foi inferior ao determinado para o mesocarpo de *Caryocar brasiliense* (354,40 ng  $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\mu\text{g}$  de extrato).

A *C. guazumifolia* não foi comparada com trabalhos descritos para o gênero *Campomanesia*, devido ao fato de ter sido utilizado, como padrão, neste trabalho, o sulfato ferroso e, nos trabalhos descritos para o gênero, o padrão Trolox. Como exemplo, tem-se o trabalho desenvolvido por Alves (2013) em que foi avaliado o potencial antioxidante dos frutos de *C. adamantium* e foi verificado um valor de 110,2  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g de extrato. Em outro estudo, desenvolvido por Donato-Pestana et al. (2015), diferentes concentrações do extrato aquoso dos frutos de *C. phaea* foram avaliadas e apresentaram valores de 13,87 e 24,28  $\mu\text{mol}$  de Trolox/mL de extrato.

### 6.2.2 Método ABTS

O extrato aquoso de *C. guazumifolia* foi avaliado frente ao radical ABTS<sup>+</sup>. Para isso, utilizou-se o Trolox como substância padrão e sua curva de calibração está representada na Figura 4.

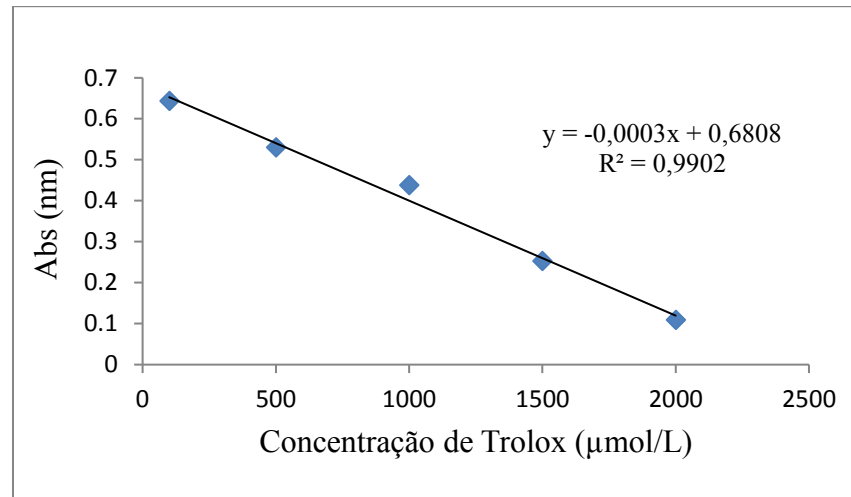


Figura 4 - Curva de calibração na determinação do poder antioxidante pelo método ABTS.

A partir dos resultados, pode-se observar que o potencial antioxidante do extrato aquoso foi de 81,08 ng Trolox/μg de extrato. Comparando-se o resultado evidenciado para *C. guazumifolia* com trabalhos descritos na literatura científica para espécies do mesmo gênero, observou-se um potencial antioxidante bastante superior. Para o extrato metanólico da polpa dos frutos de *C. adamantium* foi descrito um valor de 27,02 ng Trolox/μg de extrato (ALVES et al., 2013). Para o extrato hidroalcoólico da polpa dos frutos de *C. xanthocarpa* o valor determinado foi de 27,50 ng Trolox/μg de extrato (SANTOS, 2011). Já para os frutos de *C. lineatifolia* o valor observado foi de 3,64 ng Trolox/μg de frutos (LIMA et al., 2016), sendo este, um resultado bastante inferior ao descrito neste trabalho.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciaram que no extrato aquoso das folhas de *C. guazumifolia* há diferentes metabólitos secundários tais como flavonoides, taninos, saponinas e esteroides/triterpenos. Além disto, o potencial antioxidante da espécie em estudo

foi comprovado por meio de dois diferentes métodos (FRAP e ABTS), sendo as atividades obtidas consideradas altas quando comparadas com dados descritos na literatura para outras espécies do gênero.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, S. Y.; SILVA, S. M.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Prospecção fitoquímica, teor de flavonoides totais e capacidade antioxidante de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg (MYRTACEAE). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 11, n. 2, p. 1–14, 2014.

ADATI, R. T. **Estudo biofarmacognóstico de *Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum, Myrtaceae**. 125 p. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

ALVES, A. M.; ALVES, M. S. O.; FERNANDES, T. O.; NAVES, R. V.; NAVES, M. M. V. Caracterização física e química, fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa e resíduo de gabioba. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 35, n. 3, 2013.

ARRUDA, M. F. C. **Estudos morfoanatômico, fitoquímico e de atividades biológicas de *C. guazumifolia* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae**. 94 p. Dissertação (Mestrado em Insumos, Medicamentos e Correlatos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

BIAVATTI, M.W. et al. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 385-9, 2004.

BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas do cerrado mineiro. **Informe Agropecuário**, v. 15, n. 168, p. 15-20, 1991.

BURKE, R. W.; DIANONDSTONE, B. I.; VELAPOLDI, R. A.; MENIS, O. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol. **Clinical Chemistry**, v. 20, n. 7, p. 794-801, 1974.

CARDOSO, C. A. L.; SALVADOR, M. J.; CARVALHO, J. E.; COELHO, R. G. Avaliação das atividades antiproliferativa e antioxidante em frutos de *Campomanesia pubescens*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 4, p. 309-15, 2013.

CARDOSO, C. A. L.; SILVA, E. R. S.; BRUM, C. S. Avaliação da composição e potencial antioxidante das folhas de *Campomanesia pubescens* como estratégia de conservação. **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n. 4, 2014.

CARDOSO, C. A. L.; SILVA, J. R. M.; KATOAKA, V. M. F.; BRUM, C. S.; POPPI, N. R.. Avaliação da atividade antioxidante, toxicidade e composição por CG-EM do extrato hexânico das folhas de *Campomanesia pubescens*. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica Aplicadas**; v. 29, n. 3, p. 297-301, 2008.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. v. III. 5 ed. Portugal: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.

COUTINHO, I. D.; COELHO, R. G.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; SILVA, J. R. M.; VILEGAS, W.; CARDOSO, C. A. L. Determination of phenolic compounds and evaluation of antioxidant capacity of *Campomanesia adamantium* leaves. **Eclética Química**, v. 33, n. 4, p. 53-60, 2008.

COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G.; VIEIRA, M. C.; CARDOSO, C. A. L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 322-327, 2010.

CRAGG, G. M.; NEUWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. *Journal of Natural Products*, v. 60, p. 52-57, 1977.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. 2nd Edition. John Wiley & Sons, Ltd. Capítulo 5, 167-289. 2002.

DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR T.; FESTUCCIA W. T.; GENOVESE M. I. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 69, p. 170–178, 2015.

DORIGONI, P. A.; GHEDINI, P. C.; FRÓES, L. F.; BAPTISTA, K. C.; ETHUR, A. B. M.; BALDISSEROTTO, B.; BURGER, M. E.; ALMEIDA, C. E.; LOPES, A. M. V.; ZÁCHIA, R. A. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS, Brasil, I – relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 69-80, 2001.

EITEN, G. A Vegetação do Cerrado. In: PINTO, M.N. (Ed.). **Cerrado**: caracterização, ocupação e perspectivas. 2 ed. Brasília: Universidade de Brasília, Cap. 1, p. 17-73, 1993.

FERREIRA, L. C.; GUIMARÃES, A.G.; PAULA, C.A.; MICHEL, M.C.P.; GUIMARÃES, R.G.; REZENDE, S. A.; SOUZA FILHO, J.D.; GUIMARÃES, D. A. S. et al. Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 100-108, 2013.

GUERREIRO, F. M. G.; ZIMMERMAN, L. R.; CARDOSO, E. V.; CARDOSO de LIMA, C. A.; PERDOMO, R. T.; CAROLLO, C. A.; GUERREIRO, A. T. Investigação de toxicidade crônica das folhas de guavira (*Campomanesia pubescens*) em ratos machos. **Revista Fitos**, v. 5, n. 2, p. 64-72, 2010.

HASS, L. I. R. **Caracterização físico-química, fitoquímica, atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e efeitos antiproliferativos de extratos dos frutos do araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) e da guabioba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg.)**. 107p. Tese (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

HELDT, H.; *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. 1ª ed.. Oxford: Oxford University Press, p. 552, 1997.

LANDRUM, L. R. *Campomanesia*, Pimenta, Blepharocalyx, Legrandia, Acca, Myrrhinium and Luma (Myrtaceae). **Flora Neotropica**, n. 45, p. 1-178, 1986.

LANDRUM, L. R. & KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil - an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, p. 508-536, 1997.

LIMA, J. S. S.; CASTRO, J. M. C.; SABINO, L. B. S.; LIMA, A. C. S.; TORRES, L. B. V. Physicochemical properties of gabioba (*Campomanesia lineatifolia*) and myrtle (*Blepharocalyx salicifolius*) native to the mountainous region of Ibiapaba – CE, Brazil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 753 – 757, 2016.

LIMBERGER, R. P. et al. Chemical Composition of Essential Oils from Some *Campomanesia* Species (Myrtaceae). **Journal Essential Oil Research**, v. 13, n. 2, p. 113-115, 2001.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Rio de Janeiro, RJ. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MADALOSSO, R. C.; OLIVEIRA, G. C.; MARTINS, M. T.; VIEIRA, A. E. D.; BARBOSA, J.; CALIARI, M. V.; CASTILHO, R.O.; TAGLIATI, C. A. *Campomanesia lineatifolia* Ruiz et Pav. as a gastroprotective agent. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 772-779, 2012.



MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. Dendrologia das angiospermas: Myrtales. Santa Maria: Editora da UFSM. p. 304, 1997.

MARCHIORI, J. N. C. Estudo Microscópico da Madeira de Sete-Capotes, *Campomanesia guazumaefolia* (Camb.) Berg., Myrtaceae. **Ciência Rural**, v. 28, n. 1, 1998.

MARKMAN, B. E. O. **Caracterização farmacognóstica de *Campomanesia xanthocarpa* Myrtaceae**. São Paulo, 2002. 167p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3 ed. Fortaleza: Edições UFC, p. 148, 2009.

MELLO, J. P. C.; SANTOS, S. C. Em *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., orgs.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3 ed., 2001.

MENDONÇA, R.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. N. Flora vascular do Cerrado. In: S. SANO; ALMEIDA, S. (eds.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, p. 287-556, 1998.

MORAIS, M. L.; SILVA, A. C. R.; ARAÚJO, C. R.; ESTEVES, E. A.; PINTO, N. A. V. D. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013.

FLORA DO BRASIL. **Myrtaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 04 Out. 2016.

PASCOAL, A. C. R. F. **Prospecção de antioxidantes e de substâncias com atividade antiproliferativa em *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae)**. 99 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, 2012.

PEIXOTO, N.; SILVA, E.; TEIXEIRA, F. G.; MOREIRA, F. M. Avaliação de crescimento inicial de populações de gabioba em Ipameri. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO, 3., 2005, Anápolis. **Anais...** Anápolis, 2005.

PEREIRA, G.; AGUIAR, J. L. P. de; MOREIRA, L.; BEZERRA, H. da S. Área e população do cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 7, p. 759-763, 1997.

PIRES, V. A. **Efeito da planta *Vitex montevidensis* na aterosclerose experimental: uma abordagem sobre o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico na indústria brasileira**. 154 p. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas – Florianópolis, Santa Catarina, 2014.

KLAFKE, J. Z.; PEREIRA, R. L. D.; HIRSCH, G. E.; PARISI, M. M.; PORTO, F. G.; ALMEIDA, A. S.; RUBIN, F. H.; SCHMIDT, A.; BEUTLER, H.; NASCIMENTO, S.; TREVISAN, G.; BRUSCO, I.; OLIVEIRA, S. M. O.; DUARTE, M. M. M. F.; DUARTE, T.; VIECILI, P. R. N. Study of oxidative and inflammatory parameters in LDLr-KO mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid. **Phytomedicine**, p. 1-8, 2016.

REVILLA, J. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. Manaus: Edição Sebrae - Inpa, p. 102, 2002.

RUFINO, M. S. M.; SAMPAIO, C. G.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S. Antioxidant Activity Measurement. In: *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Citrus and Other Tropical and Subtropical*. **Tropical Fruits**, v. 773, p. 299-305, 2006.

ROCHA, E. de O. **Avaliação dos constituintes fenólicos e voláteis, atividade antioxidante e antimicrobiana de *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg**. 82 p. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

ROSA, F. R. **ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DO CERRADO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS EM *Bactris setosa* Mart., *Palmae* (TUCUM-DO-CERRADO)**. 146 p. Tese (Doutorado em Nutrição Humana). Universidade de Brasília, 2013.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, p. 33, 1998.

SANTOS, R. I. 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. Porto Alegre, Editora da UFRGS. 2003.

SANTOS, M. S. **Impacto do processamento sobre as características físico-químicas, reológicas e funcionais de frutos da gabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg)**. 148

p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná - Curitiba, 2011.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. **Flavonoids from Calycorectes, Campomanesia, Eugenia and Hexachlamys species**. *Fitoterapia*, n. 16, p. 373-374, 1995.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVIK, P. R. (Orgs.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004, p. 577, 615, 711 e 765.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; ROS PETROVICK, P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. UFRGS/ Ed. UFSC, 2007, p. 83.

SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. **Plantas Medicinais**: In: J. C. T. Carvalho, Fitoterápicos. Antiinflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, p. 480.

STADNIK, A.; OLIVEIRA, M. I. U.; ROQUE, N. Levantamento florístico de Myrtaceae no município de Jacobina, Chapada Diamantina, Estado da Bahia, Brasil. **Hoehnea** 43(1). p. 87-97, 2016.

VALLILO, M. I.; BUSTILOS, O. V.; AGUIAR, O.T. de. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg-MYRTACEAE. *Revista Instituto Flor*, v. 18, n. único, p. 15-22, 2006.

VINAGRE, A. P. S.; RÖNNAU, A. D. S. R. O.; PEREIRA, D. F.; SILVEIRA, L. U.; WILLAND, E. F.; SUYENAGA, E. S. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, p. 169-177, 2010.

XIONG, Q.; WILSON, W. K.; PANG, J. The Liebermann–Burchard Reaction: Sulfonation, Desaturation, and Rearrangment of Cholesterol in Acid. **Lipids**, v. 42, p. 87–96, 2007.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography**. Atlas. 2nd ed. Germany: Springer, 2001. P. 384.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; ROS PETROVICK,

P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS/ Ed. Universidade UFSC, 2007. p. 577-611.