



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA



MANUELA GABRIELA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR EM COMPOSTOS FENÓLICOS E
INIBIÇÃO DA XANTINA OXIDASE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DA
Guazuma ulmifolia Lam.**

OURO PRETO

2019

MANUELA GABRIELA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, TEOR EM COMPOSTOS FENÓLICOS E
INIBIÇÃO DA XANTINA OXIDASE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DA
Guazuma ulmifolia Lam.**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção de título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Dênia Antunes Saúde Guimarães

OURO PRETO
2019

S586a

Silva, Manuela Gabriela.

Avaliação da atividade antioxidante, teor em compostos fenólicos e inibição da xantina oxidase do extrato etanólico dos frutos da *Guazuma ulmifolia* Lam. [manuscrito] / Manuela Gabriela Silva. - 2019.

45f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dênia Antunes Saúde Guimarães.

Monografia (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Departamento de Farmácia.

1. *Guazuma ulmifolia*. 2. Antioxidantes. 3. Xantina oxidase. I. Guimarães, Dênia Antunes Saúde. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 615.3

Catálogo: ficha.sisbin@ufop.edu.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

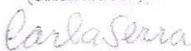
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

Escola de Farmácia



ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 436ª MONOGRAFIA DO CURSO DE FARMÁCIA DA ESCOLA DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO. Aos 27 do mês de junho de dois mil e dezenove, quinta-feira, realizou-se, a partir das 14 horas, na sala de reuniões da Escola de Farmácia, no Campus Morro do Cruzeiro, a sessão de defesa de monografia da candidata ao grau de Farmacêutico Generalista, **Manuela Gabriela Silva**, matrícula 15.1.2154, intitulada **Avaliação da atividade antioxidante, teor em compostos fenólicos e inibição da xantina oxidase do extrato etanólico dos frutos da *Guazuma ulmifolia* Lam.** A Banca Examinadora foi constituída pela Profa. Jacqueline de Souza, DEFAR/EF/UFOP, pela Profa. Carla Penido Serra, DEFAR/EF/UFOP e pela orientadora Profa. Dênia Antunes Saúde Guimarães, DEFAR-EF-UFOP. De acordo com o regulamento do Curso, a orientadora, presidente da banca, abriu a sessão, passando a palavra à candidata, que fez a exposição do seu trabalho. Em seguida, foi realizada a arguição pelos examinadores na ordem registrada acima, com a respectiva defesa da candidata. Finda a arguição, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença da candidata e do público, tendo deliberado pela sua Aprovação, com a NOTA _____. Comunicou-se a candidata que essa nota somente será liberada para a PROGRAD, após a entrega do exemplar definitivo de acordo com as normas estabelecidas pelo Sistema de Bibliotecas e Informação (Sisbin), Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), com as devidas correções sugeridas pela banca, com o aval escrito da orientadora. Nada mais havendo para constar, a presente ata foi lavrada por Gustavo Franco Campos, secretário do Colegiado de Farmácia, que após a leitura pública da mesma seguirá assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela Presidente do Colegiado. Ouro Preto, 27 de junho de 2019.


Profa. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães
(orientadora)


Profa. Dra. Carla Penido Serra


Profa. Dra. Jacqueline de Souza


Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva
Presidente do Colegiado de Farmácia

“Os cientistas reconhecem que as matas, especialmente na América Latina, guardam o segredo da cura de muitas enfermidades. As plantas constituem um verdadeiro tesouro verde: carregam complexos coquetéis, os chamados princípios ativos, preparados pela engenharia química da natureza em milhões de anos de eventos e testes evolutivos”.

(Autor desconhecido)

AGRADECIMENTO

Agradeço imensamente a tudo e a todos que ajudaram direta ou indiretamente na elaboração desse trabalho.

APOIO

Este trabalho contou com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Universidade Federal de Ouro Preto.

RESUMO

Guazuma ulmifolia Lam., popularmente conhecida como mutamba, possui usos na medicina popular no tratamento de distúrbios gastrointestinais, doenças inflamatórias, queda de cabelo, dentre outros. Estudos anteriores realizados com extratos de diferentes partes da planta demonstraram as atividades anticolinesterásica, hipotensora, antifúngica (efeito sinérgico com antifúngico), antimicrobiana, antiviral e anti-inflamatória e as presenças de flavonoides, ácidos fenólicos e taninos condensados. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio está diretamente envolvido com processos patológicos como câncer, doenças cardiovasculares, desordens neurais, Alzheimer, processos inflamatórios e outros. De modo geral, as propriedades antioxidantes de extratos de plantas são atribuídas ao seu conteúdo em substâncias fenólicas. A capacidade destas substâncias em sequestrar radicais livres possibilita atuarem na proteção do organismo contra o estresse oxidativo. No presente trabalho foram avaliados o conteúdo fenólico, a inibição da enzima xantina oxidase (XO) e as propriedades antioxidantes do extrato etanólico da mutamba (EEM) visando estimar o potencial desta espécie vegetal em sequestrar radicais livres e atuar no estresse oxidativo. Análise do cromatograma de EEM por CLAE-DAD em 280 nm mostrou uma composição química pouco complexa e a presença de duas substâncias majoritárias com tempos de retenção entre 10 e 20 minutos. O teor de compostos fenólicos de EEM foi de $122,16 \pm 0,5345$ mg de ácido gálico/g do extrato. EEM na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$ apresentou, pelo método de captura do radical DPPH, atividade antioxidante (AA) inferior a 50% de descoloração do branco. O ensaio de captura do radical ABTS^{•+} revelou uma atividade antioxidante, em capacidade antioxidante total equivalente ao trolox (TEAC), de $0,7214 \pm 0,0281$ mM. Os ensaios com os radicais DPPH e ABTS^{•+} indicaram EEM não possui substâncias antioxidantes de caráter polar. As análises dos dados (média e desvio padrão) foram realizadas com auxílio do software Microsoft® Excel® 2013 (versão: 15.0.5059.1000). O EEM não foi capaz de inibir *in vitro* a XO, demonstrando não possuir substâncias com potencial para inibir a síntese do ácido úrico. Os resultados obtidos mostraram que EEM apresentou teor intermediário em compostos fenólicos e uma baixa atividade antioxidante pelos métodos usados.

Palavras-chaves: *Guazuma ulmifolia*. Compostos fenólicos. DPPH. ABTS. Antioxidante. Xantina oxidase.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: atividade antioxidante

Abs: absorvância

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

ABTS^{•+}: ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) na forma radicalar (radical)

CLAE/DAD: cromatografia à líquido de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos

DAD: detector de arranjo de fotodiodos

DMSO: dimetilsulfóxido

DPPH: 2,2-difenil-2-picrilhidrazila

DPPH[•]: 2,2-difenil-2-picrilhidrazila na forma radicalar (radical)

EEM: extrato etanólico da mutamba

F. B.: Farmacopeia Brasileira

ODS: octadecil-silano

p.: página

v.: volume

XO: xantina oxidase

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1: Frutos (A), flores e folhas (B) da <i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.....	14
Figura 2: Estrutura química da proantocianidina	17
Figura 3: Estruturas químicas presentes nas folhas da <i>G. ulmifolia</i>	18
Figura 4: Via metabólica das purinas originando ácido úrico.....	20
Figura 5: A e B - Exsicatas das folhas, flores e frutos de <i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. depositadas no Herbário da UFMT.....	21
Figura 6: A) Percolação dos frutos de <i>Guazuma ulmifolia</i> com etanol; B) Retirada do solvente por rotaevaporação sob pressão reduzida a 40° C.....	22
Figura 7: Reação de estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante.....	26
Figura 8: Amostras do extrato etanólico de <i>G. ulmifolia</i> com solução do radical ABTS•+	27
Figura 9: Reação de estabilização do radical DPPH•	28
Figura 10: Extrato etanólico bruto seco dos frutos de <i>G. ulmifolia</i>	30
Figura 11: Perfil cromatográfico do extrato etanólico dos frutos de <i>G. ulmifolia</i> obtido por CLAE/DAD a 280 nm.....	31
Figura 12: Soluções de ácido gálico em diferentes concentrações: Tubo 1: 10 µg/ml, Tubo 2: 20 µg/ml, Tubo 3: 30 µg/ml, Tubo 4: 40 µg/ml, Tubo 5: 50 µg/ml e Tubo 6: extrato etanólico dos frutos de <i>G. ulmifolia</i> na concentração de 100 µg/ml.....	31
Figura 13: Curva analítica do ácido gálico.....	32
Figura 14: Curva analítica trolox	32
Figura 15: Soluções do branco e de amostras com solução de radical DPPH•. Tubo 1: branco (metanol e solução de DPPH• 0,38 mM); Tubo 2: Quercetina (5µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubo 3: Quercetina (10 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubo 4: Quercetina (20 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubos 5, 6 e 7: EEM (100 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1 - Condições para obtenção do perfil cromatográfico do extrato etanólico de <i>Guazuma ulmifolia</i>	30
Tabela 2 - Atividade antioxidante (AA) e concentração efetiva capaz de capturar 50 % dos radicais livres CE ₅₀ para quercetina	34
Tabela 3 - Resultados do teste de atividade de inibição da enzima xantina oxidase para os extratos brutos dos frutos de <i>Guazuma ulmifolia</i>	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS	13
	2.1 Objetivo geral	13
	2.2 Objetivos específicos	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
	3.1 Características botânicas/ Identificação (<i>G. ulmifolia</i>)	14
	3.2 Características econômicas (<i>G. ulmifolia</i>)	15
	3.3 Características medicinais (<i>G. ulmifolia</i>)	15
	3.4 Características ecológicas (<i>G. ulmifolia</i>)	16
	3.5 Estudo farmacognóstico (<i>G. ulmifolia</i>)	16
	3.6 Estudo fitoquímico das folhas e dos frutos da <i>G. ulmifolia</i>	17
	3.7 Atividade antioxidante	19
	3.8 Xantina oxidase	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
	4.1 Obtenção e preparo do material vegetal	21
	4.2 Preparo do extrato etanólico dos frutos secos e pulverizados	22
	4.3 Soluções que serão utilizadas na caracterização por CLAE/DAD, avaliação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante com DPPH e ABTS.....	22
	4.3.1 Preparo da fase móvel CLAE/DAD.....	22
	4.3.2 Preparo da solução com EEM.....	23
	4.3.3 Preparo do Radical ABTS ^{•+}	23
	4.3.4 Solução de carbonato de sódio [(Na ₂ CO ₃) 10% p/v].....	23
	4.3.5 Solução de DPPH 0,38mM.....	23
	4.3.6 Solução de Persulfato de Potássio 140mM.....	23
	4.3.7 Solução estoque de ABTS 7mM.....	23
	4.3.8 Solução estoque de ácido gálico.....	24
	4.3.9 Solução estoque de Quercetina 1000 µg/ml.....	24
	4.4 Caracterização por CLAE/DAD.....	24
	4.4.1 Especificações do método.....	24

4.4.2 Procedimento.....	24
4.5 Avaliação do teor de compostos fenólicos no extrato.....	26
4.6 Avaliação da atividade antioxidante	26
4.6.1 Avaliação por captura de radicais ABTS ^{•+}	26
4.6.2 Avaliação por captura de radicais DPPH [•]	28
4.7 Avaliação do potencial de inibição da xantina oxidase pelo extrato etanólico.....	29
4.7.1 Preparo das soluções.....	29
4.7.2 Procedimentos.....	29
5 RESULTADOS.....	30
5.1 Rendimento da extração etanólica.....	30
5.2 Perfil cromatográfico (impressão digital) do extrato etanólico por CLAE-DAD.....	30
5.3 Teor em compostos fenólicos.....	31
5.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> frente ao radical ABTS ^{•+}	32
5.5 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> frente ao radical DPPH [•]	33
5.6 Avaliação <i>in vitro</i> da inibição da xantina oxidase.....	34
6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO	38
8 REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são ricas em substâncias terapêuticas e são utilizadas pela população amplamente, muitas sem estudos científicos prévios, mas são difundidas de geração em geração por ser uma alternativa mais econômica para tratamento de enfermidades, principalmente para cuidados de saúde primários, como também faz parte da cultura popular, além disso o uso das plantas medicinais em fitoterápicos é muito importante para elaboração de novos medicamentos com o objetivo de ampliar opções de tratamento e até possivelmente, cura, visando reduzir ao máximo os efeitos colaterais e melhorando a qualidade de vida, utilizando espécies nativas (FIRMO, 2011, CRAGG, 2013, MOTTA, 2016). Além de serem usados como alvos de pesquisas para possível produção de fitoterápicos, os frutos, também podem ser inseridos na alimentação para prevenção de doenças, como por exemplo, melancia, framboesa, amora, maçã, uva, morango, entre outros frutos, que são fontes naturais de antioxidantes (OLIVEIRA et al, 2009).

Os seres vivos estão sempre expostos à ação de radicais livres, que são um dos causadores das reações oxidantes, por possuírem um elétron livre o que os tornam muito reativos. Eles são produtos de reações endógenas (respiração aeróbica, inflamações, entre outras) ou são produzidos por fatores exógenos, como tabaco e radiações gama e ultravioleta. Os radicais livres interagem com os ácidos graxos presentes nas células, podendo prejudicar as estruturas celulares. Os ácidos graxos presentes nas células são os alvos mais vulneráveis de reação oxidante, pois podem sofrer a peroxidação lipídica, propiciando o desenvolvimento de problemas cardiovasculares e câncer, por exemplo, que estão relacionadas com a ocorrência de reações com radicais livres no organismo. Os danos causados pelos radicais livres também podem originar artrite, aterosclerose, inflamações crônicas, diabetes, catarata, esclerose múltipla, disfunção cerebral, enfisema e doenças do sistema imune. Esse fato indica a importância de estudar substâncias com potencial antioxidante, para serem aplicadas em tratamento de doenças que envolvam processos oxidativos (BIANCHI e ANTUNES, 1999 e ACHKAR et al, 2013).

Em meio a tamanha diversidade, observa-se a presença da espécie *Guazuma ulmifolia* Lamarck, também conhecida popularmente como mutamba ou mutambo, além de outros nomes populares, pertencente à família Malvaceae, anteriormente, pertencia à família Sterculiaceae, que foi inserida na família Malvaceae (ALVES et al., 2011), possui ampla distribuição geográfica, sendo constatada sua presença em todos os estados do Brasil (COLLI-SILVA,

2019). A mutamba detém várias atividades farmacológicas, dentre elas pode-se destacar as atividades: adstringente, cicatrizante e antisséptica, podendo ser utilizadas todas as partes da planta (casca, folhas e frutos), sendo os frutos, pouco estudados quanto a seus atributos terapêuticos, o que incentivou o estudo dos mesmos (NETO, 2006). Assim, o estudo da atividade antioxidante dos frutos da mutamba, é importante, por serem frutos nativos e de ampla distribuição geográfica, permitindo fácil acesso entre os consumidores para uma alimentação mais saudável.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral: Avaliar o potencial antioxidante e inibidor da XO *in vitro* do extrato etanólico dos frutos de *Guazuma ulmifolia* Lam.

2.2 Objetivos específicos:

- ✓ Preparar o extrato etanólico dos frutos secos e pulverizados;
- ✓ Obter a impressão digital do extrato por CLAE/DAD;
- ✓ Quantificar o teor de compostos fenólicos no extrato.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante do extrato pelos métodos de captura dos radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}.
- ✓ Avaliar o potencial de inibição da xantina oxidase, *in vitro*, pelo extrato.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características botânicas:

Carvalho, 2007, cita mais de 15 nomes populares referentes a espécie *Guazuma ulmifolia* Lamarck, e divide por região/estado do Brasil, além de citar os nomes populares em alguns países. Os nomes em comum entre a maioria dos autores que publicaram trabalhos com a *G. ulmifolia* são: mutambo, mutamba, embira, embireira, mutamba verdadeira e fruta-de-macaco. (CARVALHO, 2007, PAIVA SOBRINHO e SIQUEIRA, 2008 e SCALON et al, 2011).

Quanto às características botânicas é possível afirmar que a *G. ulmifolia* é uma árvore de pequeno a médio porte, cujo tamanho pode variar de 8 a 30 metros de altura, possuindo flores amareladas, folhas de coloração verde e tamanho médio de 5 cm e frutos de cor verde à negra (**Figura 1**). A floração inicia-se no mês de setembro, prolongando-se até novembro, porém pode variar dependendo da região chegando a ocorrer de janeiro a dezembro. A maturação dos frutos ocorre de agosto a setembro, podendo sofrer variações em determinadas regiões e ocorrer de junho a novembro. *G. ulmifolia* é uma espécie comum no cerrado brasileiro, mas também ocorre em todo Brasil e em outros países como México, Peru, dentre outros (CARVALHO, 2007, PAIVA SOBRINHO e SIQUEIRA, 2008).



Figura 1: Frutos (A), flores e folhas (B) da *Guazuma ulmifolia* Lam.

(A) Fonte → Site: Sítio da Mata (<https://www.sitiodamata.com.br/mutambo-guazuma-ulmifolia>)

(B) Fonte → Site: Projeto Verde (<https://appverde.wordpress.com/2015/11/05/mutamba-guazuma-ulmifolia/>)

3.2 Características econômicas:

Economicamente, a *G. ulmifolia* é utilizada como ornamental no paisagismo. Sua madeira é usada na confecção de carrocerias, na marcenaria, na caixotaria e na produção de pasta de papel. A casca do tronco é utilizada para extração de fibras usadas na confecção de cordas e tecidos (NUNES et al., 2005). Os extratos das folhas e dos frutos são usados na produção de xampus, condicionadores, óleos aromáticos e perfumes. Os frutos são usados no nordeste brasileiro para a preparação do chamado “óleo-de-mutamba”, utilizados para impedir a queda de cabelo.

Duas das causas da utilização dos frutos da mutamba ser importante economicamente, segundo Mügge et al, 2016, são:

- ✓ O uso dos frutos causa menos impacto no desenvolvimento e sobrevivência da planta.
- ✓ A mutamba é encontrada em diversas regiões do Brasil.

3.3 Características medicinais:

Há muitos estudos sobre as propriedades medicinais da casca e da folha da mutamba. As cascas de *G. ulmifolia* podem auxiliar no tratamento do diabetes tipo 2, pois estimula a captação da glicose tanto em adipócitos sensíveis à insulina como nos resistentes (CASTRO, 2008).

O extrato das folhas de *G. ulmifolia* tem ação antiobesidade, devido possuir grande efeito inibidor de atividade da lipase pancreática, com isso anula a absorção de gordura ingerida na dieta (ISWANTINI et al., 2011). Além disso, os frutos e as cascas são usados para emagrecer (CARVALHO, 2007). Esse mesmo autor informa que a mutamba possui gosto semelhante ao do figo seco. Os consumidores do chá desses frutos, substituem o chá mate pelo chá dos frutos secos da mutamba (GUARIM NETO, 1984), não sendo esclarecido o motivo.

Na medicina popular, *G. ulmifolia* é usada como anti-inflamatório, antiulcerosa, antimicrobiana, antiviral, laxante e sudorífero e para combater elefantíase, doenças cutâneas, sífilis, infecções respiratórias e queda de cabelos. Essa última propriedade se deve à presença de taninos que possuem atividade antioxidante, atuando como protetores capilares e prevenindo a formação de radicais livres (NUNES et al., 2005, GALINA et al., 2005).

O extrato das folhas da mutamba são efetivas no combate a alguns parasitas como, *Leishmania brasiliensis*, *L. infantum* e *Trypanossoma cruzi* (CALIXTO JÚNIOR et al., 2016).

3.4 Características ecológicas:

Os frutos maduros não são apenas comestíveis para humanos, mas também para aves e primatas, tornando a planta importante para programas de reabilitação de habitats, sendo considerável ecologicamente por ser alimento para a fauna e por ser apta a ser usada na regeneração de ambientes degradados. (NUNES et al., 2005).

3.5 Estudo farmacognóstico:

No estudo de Patil e Biradar, 2013, foi realizada a triagem fitoquímica dos frutos e das folhas de *G. ulmifolia*, que detectou a presença de metabólitos secundários como alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides, terpenoides, glicosídeos cardiotônicos e esteroides, que possuem importância medicinal, porém esses últimos não foram detectados nos frutos, apenas nas folhas (PATIL e BIRADAR, 2013).

A seguir são informados os metabólitos secundários detectados nos frutos da *G. ulmifolia*:

- **Alcaloides:** são classificados de acordo com o aminoácido que fornece o átomo de nitrogênio e a porção fundamental do esqueleto alcaloídico (DEWICK, 2002). Existem diferentes tipos de alcaloides e uma característica comum a todos é a presença de um grupamento amina.
- **Saponinas:** são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. É uma estrutura com caráter anfifílico, ou seja, há uma parte da estrutura com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra hidrofílica (açúcares), (CASTEJON, 2011). Existem diferentes tipos de saponinas, porém não foi especificado qual tipo é encontrado na *G. ulmifolia*.
- **Flavonoides:** são particularmente benéficos, agindo como antioxidantes e dando proteção contra doenças cardiovasculares, certas formas de câncer, e contra a degeneração relacionada à idade, de componentes celulares. Sua natureza polifenólica permite que eles neutralizam os radicais livres nocivos, tais como radicais superóxido e hidroxila. (DEWICK, 2002).
- **Terpenoides:** formam uma grande e estruturalmente diversificada família de produtos naturais derivados de unidades C5: difosfato de dimetilalilo (DMAPP) e difosfato de isopentenilo (IPP).
- **Glicosídeos cardiotônicos:** possuem grupamentos de açúcar. Muitas das plantas conhecidas por conterem glicosídeos cardiotônicos têm sido usadas há muito em venenos de flecha (por exemplo, *Strophanthus*) ou como fármacos para o coração (por exemplo, *Digitálicos*). Eles são usados para aumentar a força de contração do coração, diminuindo assim, o trabalho cardíaco, como consequência permite que o coração funcione com mais eficiência, embora a dosagem

deva ser controlada com muito cuidado, já que possui o índice terapêutico estreito, ou seja, a dose terapêutica é muito próxima da dose tóxica (DEWICK, 2002).

- **Taninos:** Existem diferentes tipos de taninos, os hidrolisáveis e os condensados (CASTEJON, 2011), porém o tipo encontrado na *G. ulmifolia*, é o tanino condensado (proantocianidina), apresentado no item 3.6.

3.6 Estudo fitoquímico:

Segundo Baraona, 2014, foram encontradas proantocianidinas nos frutos da *G. ulmifolia*.

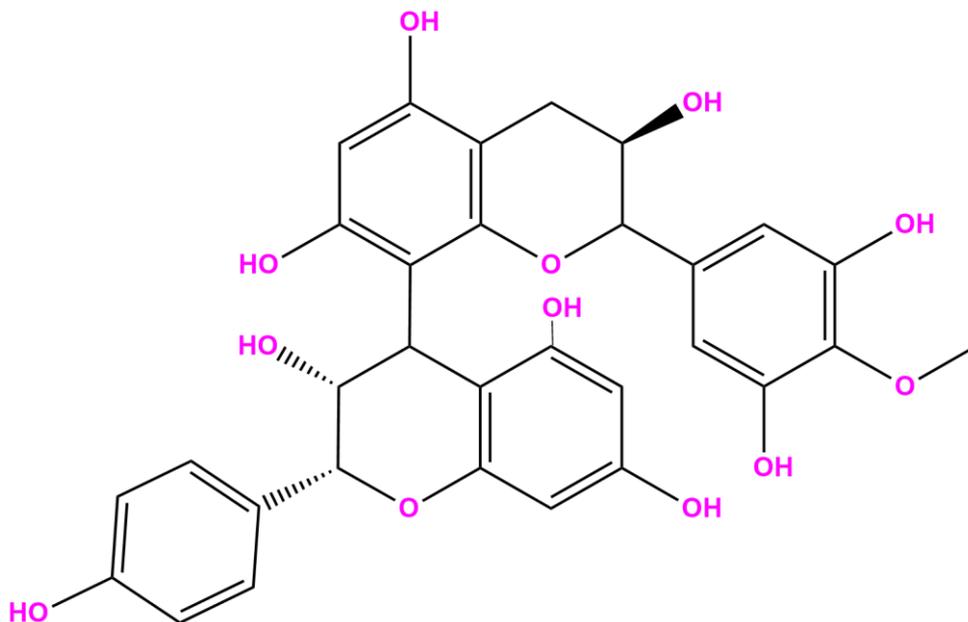


Figura 2: Estrutura química da proantocianidina. Adaptado de: National Center for Biotechnology Information.

Na figura 3 serão mostradas as substâncias químicas que foram isoladas das folhas de *G. ulmifolia*, que são: rutina (1), ácido cafeico (2), luteolina (3), catequina (4), quercetina (5), ácido clorogênico (6) e quercitrina (7) (MORAIS et al, 2017).

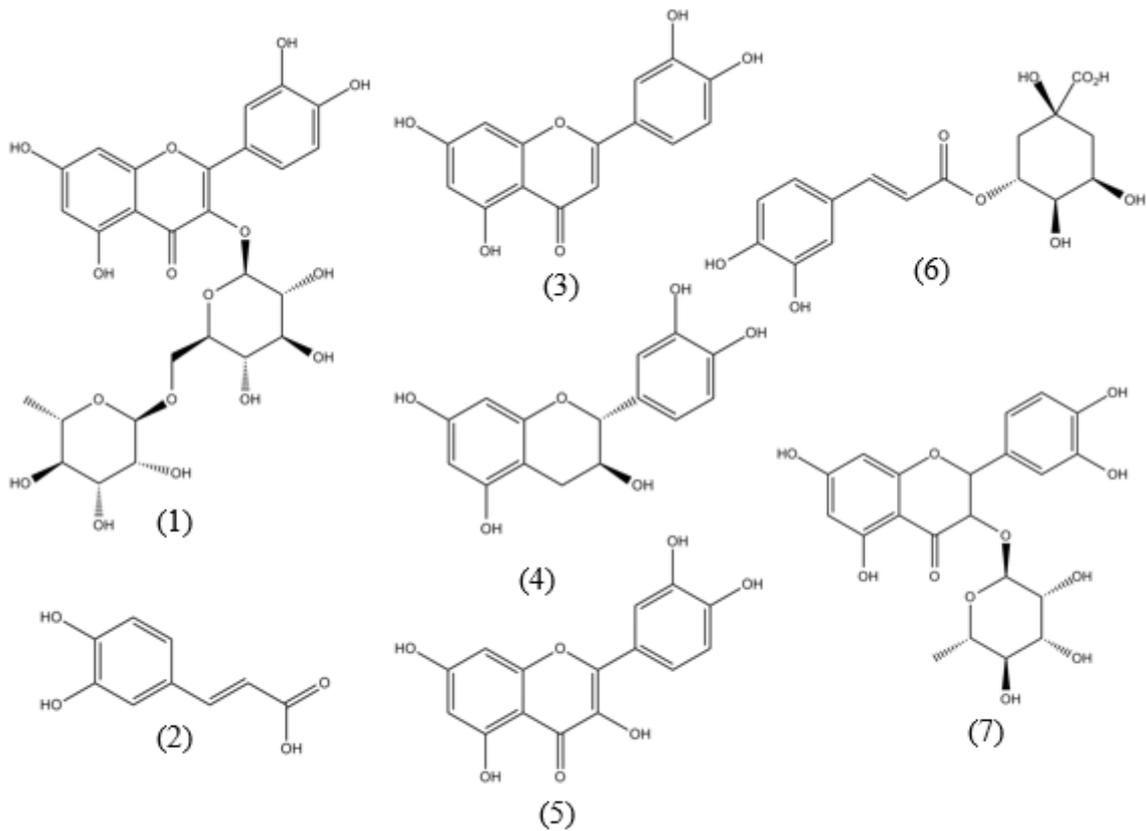


Figura 3: Estruturas químicas das substâncias encontradas nas folhas da *G. ulmifolia*.

Além desses constituintes, o óleo essencial obtido das folhas da *G. ulmifolia* possui como constituintes principais: timol, carvacrol, eugenol, espatulenol, β -cariofileno, sabineno, globulol, γ -terpineno e α -copaeno. (BOLIGON et al, 2013).

3.7 Atividade antioxidante:

Os compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante, por possuírem propriedades de oxirredução, que neutralizam espécies reativas de oxigênio, doando elétrons para essas estruturas instáveis, estabilizando-as. Estas estruturas instáveis, se estiverem em excesso e não forem neutralizadas podem desencadear várias doenças como, câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras. (DEGÁSPARI, e WASZCZYNSKYJ, 2004).

Os seres vivos estão sempre expostos à ação de radicais livres, que são um dos causadores das reações oxidantes, por possuírem um elétron livre o que os tornam muito reativos. Eles são produtos de reações endógenas, ou seja, do próprio organismo ou são produzidos por fatores exógenos, ou seja, externos como tabaco, entre outros. As células podem ter suas estruturas prejudicadas e conseqüentemente suas funções, por possuírem membranas compostas por ácidos graxos, que são os alvos mais vulneráveis de reação oxidante, pois podem sofrer a peroxidação lipídica. Além disso, as proteínas, que também desempenham papel fundamental no organismo, são prejudicadas pelos radicais livres, propiciando o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, câncer e doenças do envelhecimento, que estão relacionadas com a ocorrência de reações com radicais livres no organismo. Esse fato indica a importância de estudar plantas e substâncias com potencial antioxidante, para serem aplicadas em tratamento de doenças que envolvam processos oxidativos (ACHKAR et al, 2013).

Os radicais livres, como radicais de oxigênio (radicais hidroxila e peroxila) e o ânion superóxido não são apenas vilões e somente causam danos à saúde, eles também possuem papel importante nas reações fisiológicas do corpo humano, como no sistema imunológico combatendo microrganismos invasores (PEREIRA, 1996). Porém devem estar nas quantidades adequadas, ou seja, dentro do limite fisiológico, caso contrário, proporcionará conseqüências nocivas aos tecidos, se não houver substâncias antioxidantes disponíveis para neutralizar o excesso de radicais livres. As substâncias antioxidantes possuem a capacidade de inibir os radicais livres por doarem elétrons. Essas substâncias podem ser de origem sintética, como o hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT) ou de origem natural, como os que estão naturalmente presentes em frutas, como o ácido ascórbico (vitamina C) e o β -caroteno (ALMEIDA, 2006).

3.8 Xantina oxidase:

A enzima xantina oxidase é responsável pela conversão de hipoxantina a xantina e da xantina a ácido úrico, como ilustrado na Figura 4 (LEHNINGER, NELSON e COX, 2008).

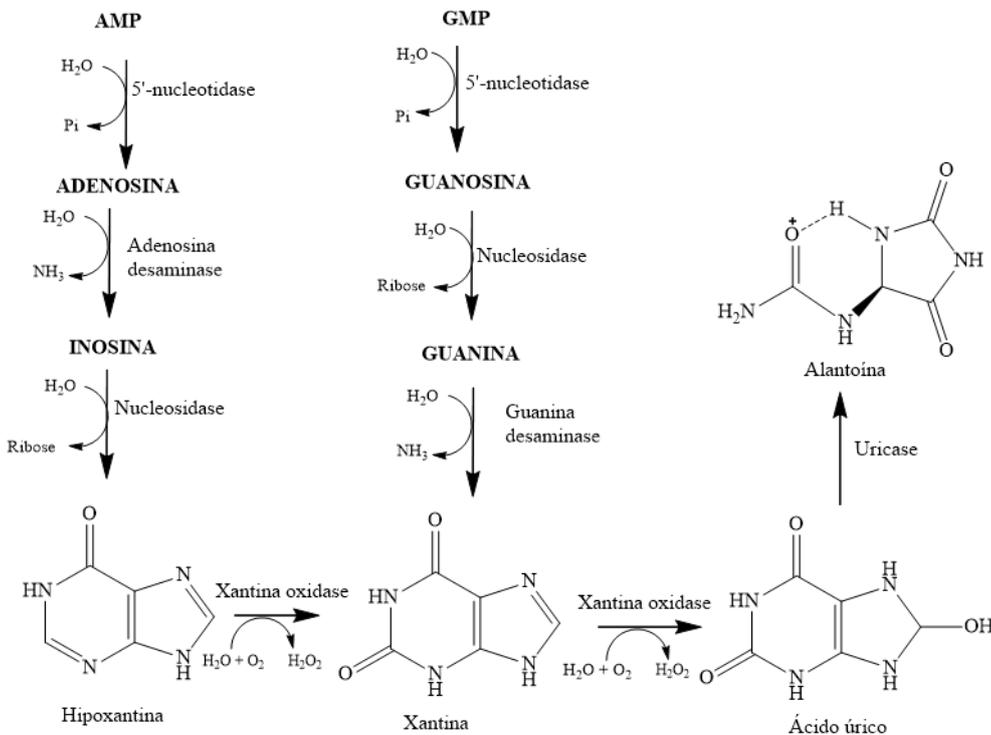


Figura 4: Via metabólica das purinas originando ácido úrico. Fonte: LEHNINGER, NELSON e COX, 2008.

O ácido úrico, por sua vez, pode participar de reações antioxidantes quando está em concentrações fisiológicas (6,0mg/dL), porém em excesso pode provocar o contrário, além de participar de reações oxidantes poderá atuar em reações pró-inflamatórias. Um exemplo clássico é a gota, que é uma doença que ocorre devido à deposição de cristais de urato monossódico (que são a forma sólida do ácido úrico), em articulações, tecido sinovial, ossos e pele, podendo gerar dor, desconforto ou até mesmo dificuldade de movimento, sendo assim, nesses casos é fundamental o inibidor da XO para impedir a formação de ácido úrico, consequentemente a formação de cristais de urato. (ZHANG et al, 2006; SAUTIN et al, 2008).

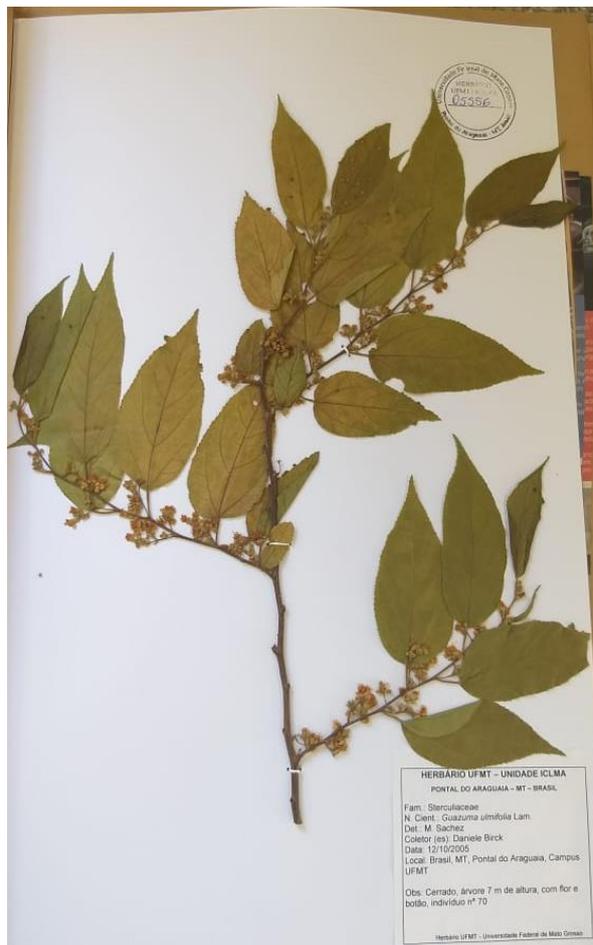
4. MATERIAIS e MÉTODOS

4.1 Obtenção e preparo do material vegetal

Os frutos de *G. ulmifolia* Lam. foram coletados manualmente no Campus Universitário do Araguaia, da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), localizado na cidade de Pontal do Araguaia, MT (15°55'04,6"S; 52°16'36,9"O), em setembro de 2016. O material vegetal foi identificado pela Doutora Maryland Sanchez (Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMT), e sua exsicata (Figura 5) foi depositada no herbário da UFMT (Universidade Federal de Mato Grosso), sob o registro nº 04198.

Para a secagem dos frutos, estes foram colocados sobre papel Kraft e permaneceram, a temperatura ambiente e ao abrigo de luz solar até completa secagem (por duas semanas).

A



B



Figura 5: A e B - Exsicatas das folhas, flores e frutos de *Guazuma ulmifolia* Lam. depositadas no Herbário da UFMT.

4.2 Preparo do extrato etanólico dos frutos secos e pulverizados

A um percolador de aço inox limpo, foram adicionados 3,0 kg de frutos secos pulverizados de *G. ulmifolia* (Figura 6A), previamente tratados com álcool etílico 95% P.A. Adicionou-se o álcool etílico até cobrir o material vegetal e deixou-se em repouso por alguns minutos. Abriu-se a torneira de modo que gotejasse uma gota por segundo. A extração foi realizada até o esgotamento do material vegetal pelo etanol (foram utilizados 16 litros de álcool etílico). O solvente foi evaporado em rotaevaporador sob pressão reduzida a 40°C (Figura 6B). O extrato foi acondicionado em recipiente de vidro, limpo, previamente pesado, etiquetado e mantido a 40°C até obtenção do extrato etanólico seco.

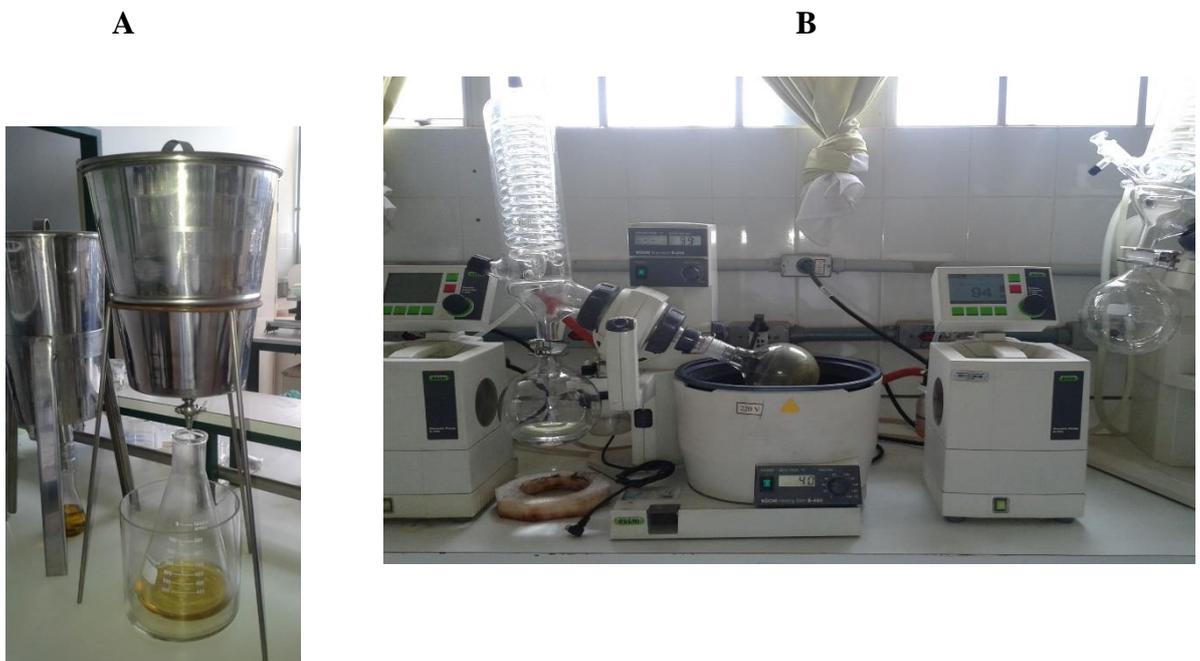


Figura 6: A) Percolação dos frutos de *Guazuma ulmifolia* com etanol; B) Retirada do solvente por rotaevaporação sob pressão reduzida a 40° C.

4.3 Soluções:

4.3.1 Preparo da fase móvel CLAE/DAD

A fase móvel foi composta por acetonitrila grau CLAE e água acidificada (mistura de água ultrapura com ácido acético 2% na proporção de 1:1). Tanto a acetonitrila quanto a água acidificada foram filtradas à vácuo, em filtros de membrana com poros de tamanho 0,45µm, e logo após filtração, foram desgaseificadas em ultrassom por 20 minutos (Morais et al, 2017).

4.3.2 Preparo da solução com EEM

Especificado mais adiante, no procedimento de cada teste realizado (nos itens: 4.4.2, 4.5, 4.6.1, 4.6.2, 4.7.1).

4.3.3 Solução de carbonato de sódio [(Na₂CO₃) 10% p/v]

Foram adicionados 1g de carbonato em um balão volumétrico de 10 ml e adicionou-se uma alíquota de água destilada para solubilizar o carbonato, por fim completou-se o volume com água destilada.

4.3.4 Solução de DPPH 0,38mM

Foram adicionados 3,8mg de DPPH em um balão volumétrico de 25ml e adicionou-se uma alíquota de metanol para solubilizar o DPPH, por fim completou-se o volume com metanol. A solução foi preparada no dia de uso e mantida ao abrigo da luz.

4.3.5 Solução de persulfato de potássio 140mM

Foram adicionados 37,84mg de persulfato de potássio em um balão volumétrico de 1ml e completou-se o volume com água destilada. A solução foi mantida sob refrigeração e ao abrigo da luz. A validade dessa solução é de um mês.

4.3.6 Solução estoque de ABTS 7mM

Foram adicionados 19,2mg de ABTS em um balão volumétrico de 5ml e completou-se o volume com água destilada. A solução foi mantida sob refrigeração, ao abrigo da luz e a validade dessa solução é de um mês.

4.3.7 Preparo do radical ABTS^{•+}

Em um Erlenmeyer de 10ml, encoberto por papel alumínio, foram adicionados 5 ml da solução estoque de ABTS 7 mM e 88 µl da solução de persulfato de potássio 140 mM. Essa solução ficou em repouso ao abrigo da luz por 16 horas em estufa a 22,5°C. O radical ABTS^{•+} foi preparado no dia anterior ao dia do teste para avaliar a AA por captura do radical ABTS^{•+}. Após 16 horas (no dia do teste para avaliar a AA por captura do radical ABTS^{•+}), foi adicionado 1 ml dessa solução, em Erlenmeyer de 50ml e foi adicionado no mesmo Erlenmeyer, etanol

P.A. em quantidade suficiente para obter uma solução cuja absorvância fosse de $0,70 \pm 0,05$ no comprimento de onda (λ) igual a 734 nm.

4.3.8 Solução estoque de ácido gálico

Foi adicionado 1 mg de ácido gálico em um balão volumétrico de 5 ml e completou-se o volume com metanol. A partir dessa solução estoque de ácido gálico, foram preparadas soluções de diferentes concentrações (apresentadas no item 4.5) para obter a curva analítica de ácido gálico.

4.3.9 Solução estoque de quercetina a 200 µg/ml

Foi adicionado 1 mg de quercetina em um balão volumétrico de 5 ml e adicionou-se uma alíquota de metanol para solubilizar a quercetina e depois completou-se o volume com metanol.

4.4 Caracterização por CLAE/DAD

4.4.1 Especificações do método:

Para obter a impressão digital do extrato etanólico da *G. ulmifolia*, foi utilizado o método de Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (CLAE) acoplada a detector de arranjo de fotodiodos, baseado no método realizado por Moraes et al (2017) com adaptações. O cromatógrafo utilizado foi o líquido de alta eficiência Waters Alliance® 2695, com detector PDA 2996 e a coluna utilizada foi a Waters Spherisorb® ODS-2, com tamanho de partículas de 5 µm com as seguintes dimensões: 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro.

4.4.2 Procedimento:

Preparou-se uma solução do EEM em acetonitrila-água acidificada. Para tal foram adicionados em um balão volumétrico de 1 ml, 1 mg do extrato etanólico, uma mistura (1:1) de acetonitrila grau CLAE e água ultrapura acidificada. Em seguida, a solução foi filtrada em filtro de seringa. O perfil cromatográfico do extrato foi obtido em CLAE utilizando o método descrito a seguir. A solução do EEM com a concentração de 1mg/ml foi preparada e 40µl da mesma foram injetados no cromatógrafo. O fluxo da fase móvel (acetonitrila e água ultrapura acidificada) foi de 0,7 ml/min, a corrida foi realizada à temperatura de 25°C e a eluição da fase móvel foi feita em diferentes gradientes de concentração e em diferentes tempos de eluição. Na **primeira tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 100% de água acidificada e aos 83 minutos passou-se a concentração para 100% de acetonitrila, retornando para 100% de água

acidificada aos 85 minutos. Na **segunda tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 98% de água acidificada e 2% de acetonitrila e aos 83 minutos passou-se a concentração para 80% de água acidificada e 20% de acetonitrila, retornando para 100% de acetonitrila aos 85 minutos. Na **terceira tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 98% de água acidificada e 2% de acetonitrila e aos 20 minutos passou-se a concentração para 80% de água acidificada e 20% de acetonitrila, retornando para 100% de acetonitrila aos 40 minutos. Na **quarta tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 98% de água acidificada e 2% de acetonitrila e aos 60 minutos passou-se a concentração para 100% de acetonitrila. Na **quinta tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 98% de água acidificada e 2% de acetonitrila e aos 10 minutos passou-se a concentração para 80% de água acidificada e 20% de acetonitrila, aos 30 minutos passou-se a concentração para 40% de água acidificada e 60% de acetonitrila, retornando para 100% de acetonitrila aos 60 minutos. Na **sexta tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 98% de água acidificada e 2% de acetonitrila e aos 15 minutos passou-se a concentração para 90% de água acidificada e 10% de acetonitrila, aos 30 minutos passou-se a concentração para 60% de água acidificada e 40% de acetonitrila, aos 45 minutos passou-se a concentração para 40% de água acidificada e 60% de acetonitrila, retornando para 100% de acetonitrila aos 60 minutos. Na **sétima tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 100% de água acidificada e aos 30 minutos passou-se a concentração para 100% de acetonitrila. Na **oitava tentativa**, iniciou-se a corrida cromatográfica com 90% de água acidificada e 10% de acetonitrila e manteve o mesmo gradiente durante toda a corrida, que durou 60 minutos. Na **nona tentativa** que apresentou o melhor cromatograma foi inicialmente com 100% de água acidificada, após 35 minutos atingiu-se 100% de acetonitrila e após 5 minutos retornou a 100% de água acidificada (detalhado na tabela 1, item 5.2). O tempo total de eluição foi de 40 minutos. O perfil cromatográfico foi obtido no comprimento de onda de 280nm. Foi realizada mais uma tentativa (**décima tentativa**) que se iniciou a corrida cromatográfica com 90% de água acidificada e 10% de acetonitrila e aos 5 minutos passou-se a concentração para 80% de água acidificada e 20% de acetonitrila, aos 10 minutos passou-se a concentração para 70% de água acidificada e 30% de acetonitrila, aos 15 minutos passou-se a concentração para 60% de água acidificada e 40% de acetonitrila, aos 20 minutos passou-se a concentração para 40% de água acidificada e 60% de acetonitrila, aos 25 minutos passou-se a concentração para 100% de acetonitrila, aos 30 minutos retornou-se a concentração para 90% de água acidificada e 10% de acetonitrila, até o final da corrida, que durou 33 minutos.

4.5 Avaliação do teor de compostos fenólicos no extrato

O procedimento foi baseado no método de Swain, e Hillis, 1959, e Sartori, 2014 com modificações.

- ➔ Padrão: Ácido gálico (para obter equivalência: mg de ácido gálico/g de extrato)
- ➔ Absorbância no comprimento de onda (λ) = 760 nm
- ➔ Avaliação: quanto maior absorção, maior conteúdo fenólico.

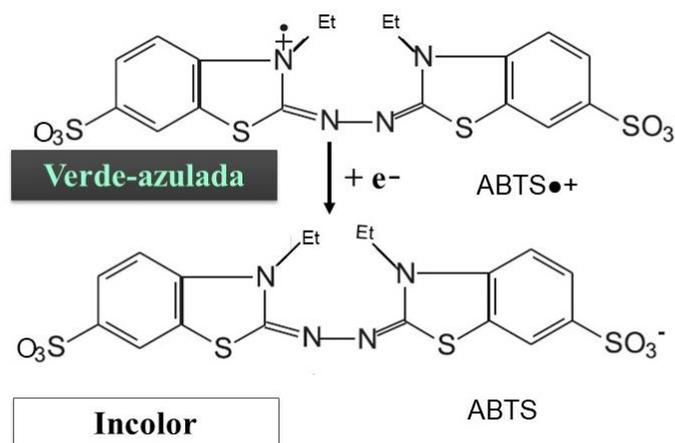
Foi preparada uma solução de EEM, para isso pesou-se 1,5mg de EEM e diluiu-se com metanol em balão volumétrico de 5ml. Homogeneizou-se 500 μ L da solução do EEM com o mesmo volume de reagente Folin-Denis®. Após 3 minutos, foram adicionados 500 μ L da solução de carbonato de sódio (10 %). Deixou em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz. A curva de calibração foi preparada utilizando soluções de diferentes concentrações de ácido gálico: 10,20,30,40 e 50 μ g/ml.

4.6 Avaliação da atividade antioxidante

4.6.1 Avaliação por captura de radical ABTS•+

O procedimento foi realizado de acordo com Vasconcelos et al., 2007, com modificações.

- ➔ Medida universal (unidade de padronização): Trolox
- ➔ Absorbância no λ =734 nm
- ➔ Atividade é avaliada pela descoloração da solução.



(Adaptado de VASCONCELOS et al, 2007)

Figura 7: Reação de estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante

Foram pesados 10,1 mg de EEM e adicionados em balão volumétrico de 1ml, e completou-se o volume com metanol. A solução de extrato foi preparada, em duplicata, na concentração de 10,1 mg/ml.

Foram adicionados 3ml da solução do radical ABTS^{•+} e 30 µl da solução do EEM, em um tubo de ensaio. Esperou-se 6 minutos para a realização da leitura no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 734 nm, previamente aferido com etanol. As leituras de cada amostra foram feitas em triplicata.

A curva analítica de trolox que foi utilizada para o presente experimento foi obtida no LAPLAMED, de acordo com Araújo, 2016a, por meio da reação de diferentes concentrações da solução de trolox com a solução do radical ABTS^{•+}.

Para a determinação da atividade antioxidante total, o procedimento foi realizado em ambiente escuro, por meio da mistura de 30 µl de cada solução do extrato com 3 ml da solução de ABTS^{•+} (Figura 8). A solução foi homogeneizada e a leitura realizada em espectrofotômetro, previamente zerado com etanol, após 6 minutos, a 734 nm.

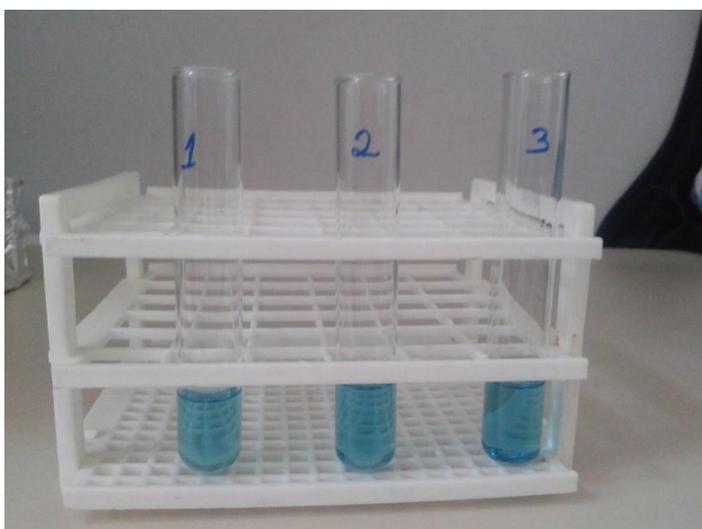


Figura 8: Amostras do extrato etanólico de *G. ulmifolia* com solução do radical ABTS^{•+}.

O valor da descoloração foi obtido por meio da curva analítica, onde se obteve a equação da reta ($Y = ax + b$, onde y corresponde a Abs x a concentração) e a partir dessa equação foi calculada a Abs referente a uma solução de 100 µg/mL do extrato. O valor de Y foi substituído na equação da reta do trolox e o valor obtido para x corresponde ao TEAC (Atividade antioxidante total equivalente ao trolox), ou seja, a concentração de trolox mM com poder oxidante equivalente a uma solução de 100 µg/mL do extrato.

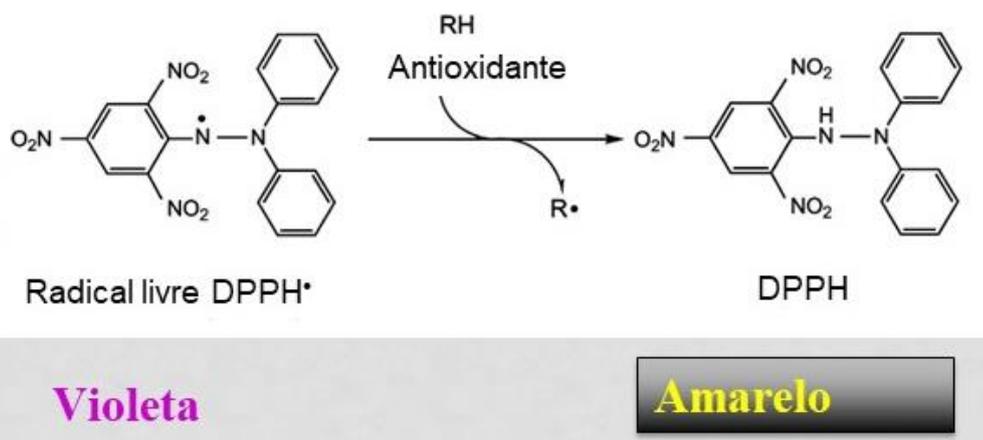
4.6.2 Avaliação por captura de radical DPPH•

O procedimento para realização do presente teste foi baseado no artigo de Moon e Shibamoto, 2009, com modificações.

- ➔ Controle positivo: Quercetina
- ➔ Absorbância no $\lambda=517$ nm
- ➔ Atividade é avaliada pela descoloração da solução.

Em ambiente escuro foram transferidos 750 μ L da solução do EEM (que foi preparada dissolvendo 1,5mg de EEM em metanol em um balão volumétrico de 5ml), para tubos contendo 1,5 mL da solução de DPPH• 0,38 mM. O controle dos extratos (Abs da solução) foi obtido misturando-se 750 μ l de cada diluição do extrato com 1,5 ml de metanol. O branco (máximo de Abs) foi obtido misturando-se 750 μ l de metanol com 1,5 ml da solução de DPPH•. A quercetina foi usada como controle positivo do método nas concentrações de 5, 10 e 20 μ g/ml. As amostras foram incubadas a 32°C por 30 minutos. As leituras foram realizadas a 517 nm. Os valores de Abs foram aplicados na seguinte equação:

$$\% \text{DESCOLORAÇÃO} = [1 - (\text{Abs extrato} - \text{Abs controle}) \div (\text{Abs branco})].$$



(Adaptado de MOON e SHIBAMOTO, 2009)

Figura 9: Reação de estabilização do radical DPPH•

Se o extrato apresentar % de descoloração superior a 50%, na concentração de 100 μ g/ml, a CI50 (quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração de DPPH• inicial em 50%) seria determinada. Para calcular a CI50, o extrato seria avaliado nas concentrações finais de: 1, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 μ g/ml.

4.7 Avaliação do potencial de inibição da xantina oxidase pelo extrato etanólico

4.7.1 - Preparo das soluções

Esse método foi realizado de acordo com Sweeney e colaboradores (2001), modificado por Ferraz-Filha e colaboradores (2006) com adaptações.

Preparou-se a solução do EEM na concentração de 640 µg/ml, pesando 6,4mg de EEM e dissolvendo em DMSO, Tween 80 e água ultrapura, na proporção 1:1:8, respectivamente, em um balão volumétrico de 10ml.

Preparou-se uma solução estoque de alopurinol (fármaco de referência, inibidor da xantina oxidase, utilizado como controle positivo) em DMSO: Tween 80:água ultrapura 1:1:8, na concentração de 20; 15; 10; 5 e 1 µg/ml.

Uma solução tampão fosfato 1/15M (pH 7,5) foi preparada a partir das soluções contendo 3,15 g de fosfato de potássio monobásico em 100 ml de água ultrapura e 2,84 g de fosfato de sódio dibásico em 100 ml de água ultrapura.

Uma solução da enzima xantina oxidase (XO) (0,28 U/ml) foi preparada pela mistura de 20 µl da XO em 2,2 ml de tampão fosfato 1/15M.

A solução da xantina (substrato da XO) 0,60 mM foi obtida pela solubilização de 2,3 g da xantina em água ultrapura, no balão volumétrico de 25ml.

4.7.2 – Procedimentos

Aos 500 µl da solução do EEM e das soluções de alopurinol, foram adicionados 1125 µl de tampão fosfato (pH 7,4) e 187,5 µl da enzima XO e estas soluções foram incubadas a 30 °C por 10 minutos. Após a incubação, foram adicionados às soluções dos extratos, 1375 µl da solução de xantina e, logo em seguida, realizada a leitura da absorbância das mesmas no espectrofotômetro, utilizando o Software Kinetics/Cary WinUV a um comprimento de onda de 295 nm. As leituras foram realizadas a cada minuto por 12 minutos.

Uma solução composta de DMSO e Tween 80 em água destilada (1:1:8) foi preparada e utilizada como branco.

A solução de alopurinol (500 µL) foi adicionada de 1125 µl de tampão fosfato (pH 7,4) e 187,5 µl da enzima XO e estas soluções foram incubadas a 30 °C por 10 minutos. Após este tempo foi realizada a leitura a 295 nm. Os resultados foram obtidos pela equação:

Inibição XO (%) = [1 - (α amostra ÷ α branco)] x 100, onde: α = inclinação, que significa a variância linear da absorbância por minuto da solução analisada (branco e amostra).

5. RESULTADOS

5.1 Rendimento da extração etanólica

Foram obtidos 845,0 g de extrato etanólico seco dos frutos. O rendimento foi de 28%.



Figura 10: Extrato etanólico bruto seco dos frutos de *G. ulmifolia*.

5.2 Perfil cromatográfico (impressão digital) do extrato etanólico por CLAE-DAD

Cerca de dez diferentes condições cromatográficas foram testadas. A que apresentou a melhor resolução está especificada na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições para obtenção do perfil cromatográfico do extrato etanólico de *Guazuma ulmifolia*

Tempo de eluição (minutos)	%A	%B	Tempo de eluição (minutos)	%A	%B
0.01	100.0	0.0	20.00	40.0	60.0
5.00	100.0	0.0	30.00	20.0	80.0
10.00	80.0	20.0	35.00	0.0	100.0
15.00	60.0	40.0	40.00	100.0	0.0

A: água acidificada com 2 % de ácido acético. B: acetonitrila. Fluxo: 0,7 ml/min

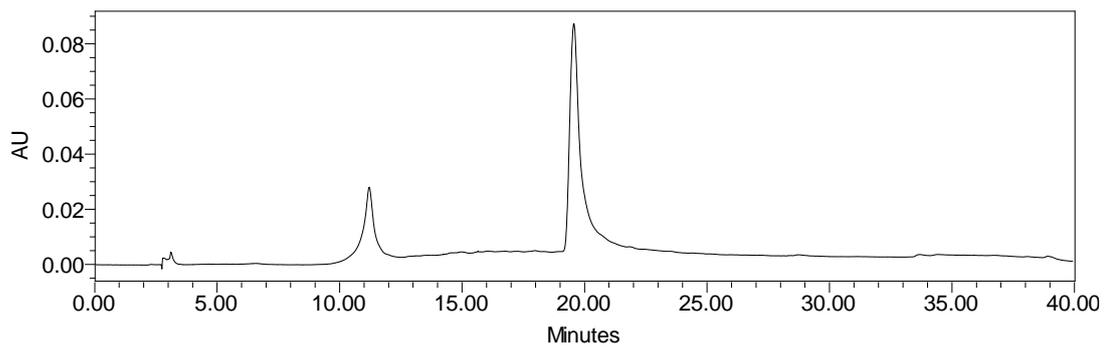


Figura 11: Perfil cromatográfico do extrato etanólico dos frutos de *G. ulmifolia* obtido por CLAE/DAD a 280 nm.

5.3 Teor em compostos fenólicos

Na figura 12 é mostrada a coloração das diferentes concentrações de ácido gálico e a curva analítica obtida por meio das absorvâncias do ácido gálico e suas respectivas concentrações está apresentada na Figura 13. A partir dessa curva foi possível obter a equação da reta, essencial para o cálculo da concentração de compostos fenólicos no extrato etanólico.



Figura 12: Soluções de ácido gálico em diferentes concentrações: Tubo 1: 10 $\mu\text{g/ml}$, Tubo 2: 20 $\mu\text{g/ml}$, Tubo 3: 30 $\mu\text{g/ml}$, Tubo 4: 40 $\mu\text{g/ml}$, Tubo 5: 50 $\mu\text{g/ml}$ e Tubo 6: extrato etanólico dos frutos de *G. ulmifolia* na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$.

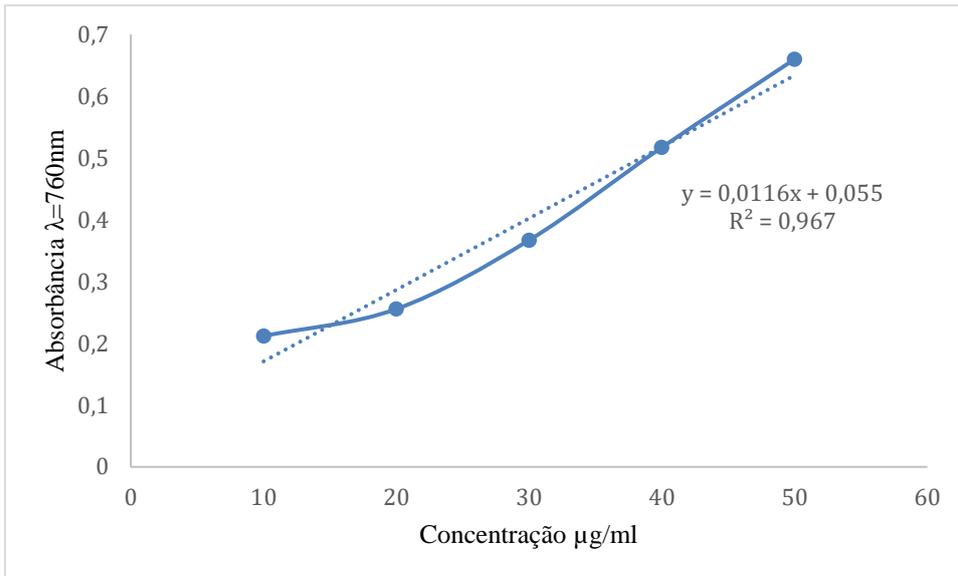
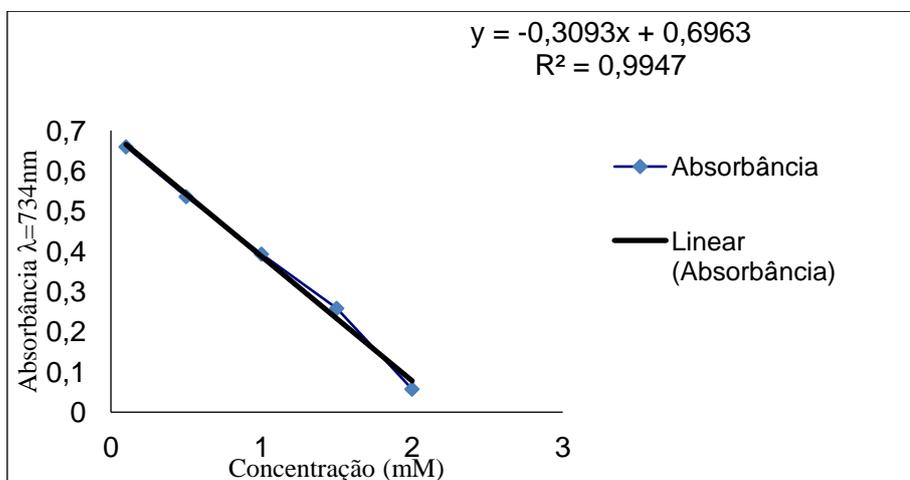


Figura 13: Curva analítica do ácido gálico

A partir da equação da reta ($y=0,0116x+0,055$), obtida pela curva analítica do ácido gálico, foi calculado o teor em compostos fenólicos presentes no EEM, substituindo na equação da reta obtida, o valor de y pela média da leitura em triplicata do EEM. A concentração de teor em compostos fenólicos obtida para EEM foi de: 122,16 mg/g de extrato.

5. 4 Atividade antioxidante *in vitro* frente ao radical ABTS⁺

Na Figura 14 é apresentado o gráfico que foi elaborado no LAPLAMED, por Araújo (2016a), com a finalidade de obter a curva analítica de trolox para que por meio da equação da reta gerada a partir dessa curva, fosse possível quantificar a concentração do equivalente ao trolox em mM do EEM.



Fonte: ARAÚJO, 2016a.

Figura 14: Curva analítica trolox

Baseado na equação da reta obtida da curva analítica do trolox, foi calculado o valor da concentração do equivalente ao trolox em mM do EEM, que foi de 0,7214mM equivalentes ao trolox. Essa concentração é a média das concentrações obtidas da amostra em triplicata.

5.5 Atividade antioxidante *in vitro* pela captura do radical DPPH•

A atividade antioxidante (AA) neste ensaio foi avaliada pela capacidade do EEM e da quercetina (substância antioxidante de referência) em capturar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), um radical livre estável à temperatura ambiente e com coloração violeta característica quando se encontra em solução metanólica.

Para obtenção da AA do EEM pelo método de captura do radical DPPH•, foi utilizada a Abs do branco e a Abs do controle de EEM para aplicar na fórmula informada no item 4.6.2. Até mesmo visualmente (Figura 15) foi possível perceber que a solução do EEM, na concentração de 100 µg/ml, não foi capaz de descolorir a solução do radical DPPH•.

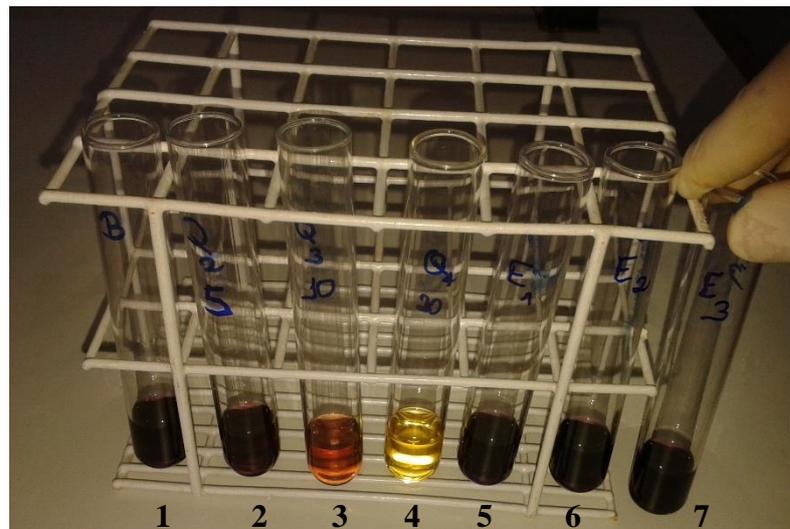


Figura 15: Soluções do branco e de amostras com solução de radical DPPH•. Tubo 1: branco (metanol e solução de DPPH• 0,38 mM); Tubo 2: Quercetina (5µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubo 3: Quercetina (10 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubo 4: Quercetina (20 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM; Tubos 5, 6 e 7: EEM (100 µg/ml) e solução de DPPH• 0,38 mM.

A Tabela 2, informa os valores teóricos para concentração da quercetina capaz de capturar o radical DPPH· em 50%, baseados nos valores obtidos experimentalmente com três diferentes concentrações da quercetina.

Tabela 2 - Atividade antioxidante (AA) e concentração efetiva capaz de capturar 50 % dos radicais livres CE₅₀ para quercetina.

	AA (%)	CE ₅₀ (µg/ml)
Quercetina 5µg/ml	25,51	9,8
Quercetina 10 µg/ml	62,83	7,96
Quercetina 20µg/ml	95,43	10,48
	Média	9,413333333
	D.P	1,303738

D.P: desvio padrão.

Tratando-se da captura do radical DPPH· pelo EEM na concentração de 100 µg/ml, a média do percentual de descoloração das três amostras do EEM foi de 1,53%.

5.6 Avaliação *in vitro* da inibição da xantina oxidase

Foram obtidas as seguintes equações da reta para cada amostra: $y=549,02x+5901,7$; $y=571,44x+5693,2$ e $y=572,0+5708,6$ e para o branco: $y=556x+5073,4$. A partir dessas equações da reta foi possível obter a inclinação da reta para aplicar na equação apresentada no item 4.7.2. A partir dos resultados fornecidos através dos cálculos com essa equação (Tabela 3) foi possível chegar à conclusão de que o EEM não foi capaz de inibir significativamente a XO, *in vitro*.

Tabela 3 - Resultados do teste de atividade de inibição da enzima xantina oxidase para os extratos brutos dos frutos de *Guazuma ulmifolia*

Amostra	Média da inibição
Extrato 100 µg/ml	ND
Alopurinol (10 µg/ml)	94,86%

ND: Não detectado.

6. DISCUSSÃO

O rendimento na obtenção do extrato vegetal é um fator importante, pois é indispensável conhecer a quantidade necessária de planta e/ou droga vegetal que será necessária para se obter o extrato. O método usado para a extração dos frutos da mutamba foi a percolação, que é um dos métodos de extração preconizados pela Farm. Bras. 5ª Ed. A percolação consiste na obtenção do extrato por meio da passagem do líquido extrator através da droga vegetal moída, com o controle do fluxo, sem a necessidade de aquecimento, ou seja, é um método de extração realizado a temperatura ambiente, o que minimiza o risco de perda de substâncias termosensíveis (MACIEL et al, 2002). Segundo Rodrigues e colaboradores (2016), a percolação se tornou o processo mais difundido e rentável entre os pesquisadores e na indústria farmacêutica. Como foi mencionado no item 5.1, o rendimento para obtenção do EEM foi de 28%.

O perfil cromatográfico do extrato etanólico dos frutos de *G. ulmifolia* (impressão digital), contribuirá com o banco de dados sobre os frutos da *G. ulmifolia*, como o nome já diz, a impressão digital do extrato é a marca de identificação de diversos componentes existentes no extrato e fornece informações quanto à variação da constituição química de determinada espécie relativa à época e local da coleta (PENG et al., 2011; RASHEED et al., 2012). Estas informações poderão ser usadas posteriormente na análise da qualidade de matéria prima para a produção de fitoterápicos e para pesquisa. O perfil cromatográfico do EEM mostrou uma baixa complexidade, indicando duas substâncias principais nos tempos de retenção em torno de 11 e 20 minutos. A cromatografia foi utilizada com fase estacionária (de fase reversa), ou seja, sílica C18 (que possui caráter apolar), e a proporção da fase móvel foi variável de acordo com o tempo (sistema gradiente), as substâncias presentes no EEM não demonstraram alta afinidade pela fase estacionária, o que indica que não possuem um elevado caráter apolar. No trabalho de Lopes e colaboradores (2009), o extrato semipurificado [com *ent*-catequina, epicatequina, *ent*-galocatequina, epigalocatequina, epiafzelequina- (4 β →8) -epicatequina, epicatequina-(4 β →8) -catequina (procianidina B1), epicatequina-(4 β →8) - epicatequina (procianidina B2), epicatequina-(4 β →8) -epigalocatequina, e 4'-*O*-metil-epiafzelequina] das cascas da *G. ulmifolia* foi submetido a CLAE e apresentou picos nos comprimentos de onda de 210 e 280 nm, o que pode-se concluir que, no extrato das cascas foi detectada a presença de taninos condensados, semelhante ao cromatograma obtido dos frutos, que apresentou picos a 280 nm (Figura 11).

A busca por substâncias antioxidantes vem aumentando nas últimas décadas. Os compostos oxidantes, como as espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), estão relacionados ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, inflamatórias e câncer (PRAKASH et al., 2001; DRÖGE, 2002).

A atividade antioxidante de muitos compostos fenólicos é, essencialmente, resultado da facilidade com a qual um átomo de hidrogênio do grupo hidroxila (OH) da sua estrutura aromática é doado para um radical livre, bem como a habilidade da mesma em suportar um elétron não-emparelhado através do deslocamento do mesmo ao redor de todo o sistema de elétron da molécula a (DUTHIE et al, 2003). Segundo o trabalho de Giada e Mancini Filho (2006), houve progresso significativo em relação ao conhecimento do possível papel de substâncias fenólicas na promoção da saúde em humanos e de seus possíveis mecanismos de ação na prevenção de doenças.

No estudo feito por DURAISWANY e colaboradores (2018), foi detectada a presença de compostos fenólicos (27,2797mg equivalente ao ácido tânico/g de peso seco do material vegetal), como fenol e tanino, porém não foram detectados flavonoides no extrato etanólico dos frutos da *G. ulmifolia*.

O método para determinar atividade antioxidante *in vitro* utilizando o radical ABTS é um dos mais usados. Por este método é possível avaliar tanto amostra hidrossolúvel quanto lipossolúvel, sendo muito utilizado nas análises das atividades antioxidantes de vários tipos de frutos como acerola, goiaba, açai, maracujá, pitanga, entre outros (SUCUPIRA et al, 2012). No estudo realizado por Vieira e colaboradores (2011), com extrato hidroalcoólico da polpa da acerola, a atividade antioxidante *in vitro* frente ao radical ABTS^{•+} foi igual a 3,690 mM, valor significativo.

Em um estudo feito por Melo e colaboradores (2008), foi observado que a ação dos extratos das frutas testadas nos ensaios DPPH e β -caroteno/ ácido linoleico foi diferenciada. Enquanto no ensaio do DPPH, o extrato aquoso da acerola exibiu a maior capacidade de sequestrar o radical, no ensaio β -caroteno/ ácido linoleico este extrato apresentou pequeno percentual de inibição da oxidação, o que indica que o DPPH interage melhor com compostos mais polares.

O perfil cromatográfico de EEM por CLAE mostra duas substâncias principais cujos tempos de retenção indicam tratar-se de compostos de polaridade intermediária. Analisando os resultados obtidos para o EEM pôde-se concluir que o baixo teor em compostos fenólicos e a

baixa atividade antioxidante encontrada para este extrato está relacionado com a baixa incidência de substâncias fenólicas polares em EEM.

Um estudo realizado por Batista (2016), detectou no extrato metanólico dos frutos da *G. ulmifolia* a presença de compostos antioxidantes, pelo método de cromatografia em camada delgada utilizando β -caroteno como revelador. Isto indica que há substâncias antioxidantes, sendo necessário medir a atividade antioxidante do EEM pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico, que consiste em avaliar a capacidade de uma determinada substância prevenir a oxidação do β -caroteno, protegendo-o dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. (ALVES et al, 2010).

A xantina oxidase é a enzima responsável, no metabolismo das purinas, pela transformação tanto da hipoxantina em xantina (Figura 4), quanto desta em ácido úrico. Neste processo de formação do ácido úrico ocorre a produção de peróxido de hidrogênio e radical superóxido, por isso esta via metabólica é considerada uma das principais fontes biológicas de espécies reativas de oxigênio. Assim, é possível que a inibição deste processo enzimático por compostos que exibem propriedades antioxidante ou inibitória da xantina oxidase possam ter uso terapêutico (RAO et al, 2003 e DEW et al, 2005).

A inibição da xantina oxidase vem sendo estudada no Laboratório de Plantas Mediciniais da Escola de Farmácia da UFOP, com diversas espécies e várias já demonstraram atividade sobre a xantina oxidase, dentre elas podemos citar a *Lychnophora trichocarpha* (DE SOUZA et al., 2012; BERNARDES et al, 2019), *Campomanesia velutina* (ARAÚJO, 2016b), *Tabebuia roseoalba* (FERRAZ-FILHA et al, 2016), *Lychnophora ericoides*, *Lychnophora passerina*, *Lychnophora staavioides* e *Lychnophoriopsis candelabrum* (FERRAZ-FILHA et al, 2006), entre outras.

O extrato etanólico dos frutos de *G. ulmifolia*, não foi capaz de inibir a XO, *in vitro*, demonstrando não possuir substâncias com potencial para inibir a síntese do ácido úrico.

7. CONCLUSÃO

As análises realizadas com o extrato etanólico dos frutos de *G. ulmifolia* indicaram uma quantidade intermediária em compostos fenólicos, baixa atividade antioxidante e sugeriram que o extrato deve possuir componentes de polaridade de baixa a intermediária. Além disso, demonstraram que o extrato etanólico não possui substâncias com potencial efeito anti-hiperuricêmico. Em suma:

Compostos fenólicos → Teor intermediário

AA → Baixa

Inibição da XO *in vitro* → Ausente

8. REFERÊNCIAS

- ACHKAR, M. T.; NOVAES, G. M.; SILVA, M. J. D.; VILEGAS, W. **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, J. M. D.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F.M. **Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH[•]**. Ciência e Tecnologia dos Alimentos, v.26(2) p. 446- 452, 2006.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. **Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos**. Química Nova, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ALVES, I. M.; DANTAS, I. C.; MELO, J. I. M.; FELISMINO, D. C. **A família Malvaceae *sensu lato* em uma área do agreste paraibano, nordeste do Brasil**. Revista de Biologia e Farmácia, v. 6, n. 1, p.1-20, 2011.
- ARAÚJO, M. C. de P. M. **Avaliação das atividades antiartrite gotosa e antioxidante e da toxicidade pré-clínica de *Campomanesia velutina* (Cambess) O. Berg**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas –CiPharma. Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, Brasil, 2016a.
- ARAÚJO, M. C. P. M. ; FERRAZ FILHA, Zilma Schimith ; FERRARI, F. C. ; SAUDE-GUIMARAES, D. A. ***Campomanesia velutina* leaves extracts exert hypouricemic effects through inhibition of xanthine oxidase and ameliorate inflammatory response triggered by MSU crystals**. Revista Brasileira de Farmacognosia (Impresso), v. 26, p. 720-727, 2016b.
- BARAONA, T. A. H. **Determinacion de la concentracion de taninos en las hojas, corteza e frutos de la especie de Guácimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) Cajamarca Peru**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal). 2014. Universidad Nacional de Cajamarca – Facultad de Ciencias Agrarias – Escuela Académico Profesional de Ingeniería Forestal, Jaén, Peru, 2014.
- BATISTA, L. E. G. **Estudo Biomonitorado do Extrato Metanólico dos Frutos de Mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.)**. (Dissertação) 2016. Universidade Federal de Mato Grosso. Barra do Garças, 2016.
- BERNARDES, A. C. F. P. F.; COELHO, G. B.; ARAÚJO, M. C. de P. M.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. ***In vivo* anti-hyperuricemic activity of sesquiterpene lactones from *Lychnophora* species**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 29, p. 241-245, 2019.
- BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta**. Universidade de São Paulo – Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas – Faculdade de

Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Rev. Nutr., Campinas, 12 (2), Maio/Agosto, p. 123-130, 1999.

BOLIGON, A.A.; FELTRIN, A.C.; ATHAYDE, M.L. **Determination of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Guzuma ulmifolia* essential oil**. American Journal of Essential Oils and Natural Products .1 (1): 23-27. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. Vol. 1, 5ª Ed. 546 p. Brasília: 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**. 126p. Brasília: Anvisa, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Ministério da Saúde. **Monografia da espécie *Malva sylvestris* L. (malva)**. Brasília: 2015.

CALIXTO JÚNIOR, J. T.; MORAIS, S. M. de; GOMEZ, C. V.; MOLAS, C. C.; ROLON, M.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; OLIVEIRA, C. D. de M.; TINTINO S. R.; COUTINHO, H. D. M. **Phenolic composition and antiparasitic activity of plants from the Brazilian Northeast “Cerrado”**. Saudi Journal of Biological sciences, v. 23, p. 434- 440, 2016.

CARVALHO, P. E. R. **Circular Técnica 141 – Mutamba – *Guazuma ulmifolia***. Embrapa Florestas. Colombo, PR. Novembro, 2007.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. (Seminários aplicados – programa de pós-graduação de ciência animal). Escola de veterinária e zootecnia - Universidade Federal de Goiás, 2011.

CASTRO, A. J. A.; OLIVO, L. A. S. The anti-diabetic properties of *Guazuma ulmifolia* Lam are mediated by the stimulation of glucose uptake in normal and diabetic adipocytes without inducing adipogenesis. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Biología Molecular, Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4a secc., 78216 San Luis Potosí, SLP, Mexico. Journal of Ethnopharmacology, v. 118, n. 2, 23 de Julho, p. 252-256, 2008.

COLLI-SILVA, M. ***Guazuma* in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9065>>. Acesso em: 30 Jan. 2019.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drugs leads. Natural Products Branch, Developmental Therapeutics Program, Division of Cancer Treatment and Diagnosis, Frederick National Laboratory for Cancer Research, P. O. Box B, Frederick, MD 21702-1201, USA. Biochim Biophys Acta.1830(6): p. 3670–3695, June, 2013.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. Universidade Tuiuti do Paraná; Universidade Federal do Paraná. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 5, n. 1, , p. 33 - 40, Janeiro-Junho, 2004.

DE SOUZA, M. R. ; DE PAULA, C. A. ; DE RESENDE, M. L. P. ; GRABE-GUIMARÃES, A. ; DE SOUZA FILHO, J.D. ; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. **Pharmacological basis for use of *Lychnophora trichocarpa* in gouty arthritis: Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 142, p. 845-850, 2012.

DEW, T.P.; DAY, A. J.; MORGAN, M. R. A. **Xanthine Oxidase Activity in Vitro: Effects of Food Extracts and Components**. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 53, No. 16, p. 6510-6515, 2005.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham, UK. 2nd Ed. 2002.

DRÖGE, W. **Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function**. *Physiol Rev* 82: 47–95, 2002.

DURAIKWANY, B.; SINGANA, M.; VARADARAJAN, V. **Physicochemical, Phytochemicals and Antioxidante Evaluation of *Guazuma Ulmifolia* Fruit**. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 10, Issue 9, 2018.

DUTHIE, G. G.; GARDNER, P. T. e KYLE, J. A. M. **Plant polyphenols: are they the new magic bullet?** *Proc Nutr Soc*, v.62, p. 599-603, 2003.

FERRAZ-FILHA, Z. S.; VITOLO I.F., FIETTO, L.G., LOMBARDI, J. A.; SAÚDE GUIMARÃES, D. A. **Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil (“Arnica”)**. *Journal of Ethnopharmacology*, 107 , p. 79–82, 2006.

FERRAZ FILHA, Z. S.; ARAÚJO, M. C. de P. M.; FERRARI, F. C.; DUTRA, I. P. A. R.; SAÚDE-GUIMARÃES, D. A. ***Tabebuia roseoalba*: In Vivo Hypouricemic and Anti-inflammatory Effects of Its Ethanollic Extract and Constituents**. Laboratório de Plantas Mediciniais, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil; Departamento de Química, Instituto Federal de Minas Gerais-Campus Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. *Planta Med* ; 82(16): 1395-1402, 2016.

FIRMO, W. da C. A.; MENEZES, V. de J. M. de; PASSOS, C. E. de C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R. S. G.. **Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais**. *Cad. Pesq.*, São Luís, vol. 18, n. especial, Dezembro, 2011.

GALINA, K. J.; SAKURAGUI, C. M.; ROCHA, J. C. B.; LORENZETTI, E.R.; MELLO, J. C. P. de. **Contribuição ao estudo farmacognóstico da mutamba (*Guazuma ulmifolia* – Sterculiaceae)**. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) – Pós-graduação em ciências farmacêuticas – Campus de

Araraquara, SP; Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Biologia & Pós-graduação em ciências farmacêuticas, PR. Acta Farm. Bonaerense v. 24, n. 2 , p. 225-233, 2005.

GIADA, M. de L. R.; MANCINI FILHO, J. **Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana.** Universidade de São Paulo - USP, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, São Paulo, SP, Brasil. Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa, 12 (4): 7-15, 2006.

GUARIM NETO, G. **Plantas do Brasil:** angiospermas do Estado de Mato Grosso-I. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 36, n. 59, p.105-121, 1984.

ISWANTINI, D.; SILITONGA, R. F.; MARTATILOFA, E.; DARUSMAN, L. K. **Zingiber cassumuna, Guazuma ulmifolia, and Murraya paniculata extracts as antiobesity : In vitro inhibitory effect on pancreatic lipase activity.** Biopharmaca Research Center, Bogor Agricultural University, Jalan Taman Kencana No. 3, Bogor 16151, Indonesia. Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bogor Agricultural University, Darmaga Campus, Bogor, 16680, Indonesia. HAYATI Journal of biosciences, v. 18, n. 1, p. 6-10, 2011.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger.** 5ª ed., W. H. Freeman, 2008.

LOPES, G.C.; ROCHA, J.C.B.; ALMEIDA, G.C. de; MELLO, C.P. de. **Condensed Tannins from the Bark of Guazuma ulmifolia Lam. (Sterculiaceae).** Printed in Brazil - ©2009 Sociedade Brasileira de Química. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 20, No. 6, 1103-1109, 2009.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR., V. F; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. **Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares.** Universidade Federal do Rio de Janeiro – Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Departamento de Química, RJ, Brasil. Química Nova, vol. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. de; NASCIMENTO, R. J. do. **Capacidade antioxidante de frutas.** Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas (*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*), vol. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

MOON, Joon- Kwan; SHIBAMOTO, Takayuri. **Antioxidant Assays for Plant and Food Components.** University of California, Davis, California. Department of Environmental Toxicology. Journal of agricultural and food chemistry, v. 57, n. 5, p. 1655-1666, Jan. 2009.

MORAIS, S. M.; CALIXTO-JÚNIOR, J.T; RIBEIRO,L.M.; SOUSA, H.A.; SILVA, A.A.S.; FIGUEIREDO, F.G.; MATIAS, E.F.F.; BOLIGON,A.A.; ATHAYDE, M.L.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; COUTINHO, H.D.M. **Phenolic composition and antioxidant, anticholinesterase and antibioticmodulating antifungal activities of Guazuma ulmifolia Lam. (Malvaceae) ethanol extract.** South Africa Journal of Botany, p. 251-257, 2017.

MOTTA, A. de O.; LIMA, D. C. da S.; VALE, C. R. do. **Levantamento do uso de plantas medicinais em um centro de educação infantil em Goiânia – GO**. Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 14, n. 1, p. 629-646, 2016.

MÜGGE, F. L. B.; SOUZA, J. P.; MELO, J. C.; BRANDÃO, M. G. L. **Native plant species with economic value from Minas Gerais and Goiás: a discussion on the currentness of the data recovered by the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire**. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte – MG, Brasil; Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ), Sete Lagoas – MG, Brasil. Horticultura brasileira, v. 34, n. 4, p. 455 – 462, 2016.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Database. **Proanthocyanidin**, Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/108065>. Acesso 25 de Junho de 2019.

NETO, G. G. **O saber tradicional pantaneiro: As plantas medicinais e a educação ambiental**. Universidade Federal de Mato Grosso. Rev. eletrônica Mestr. Educ. Ambient. ISSN 1517-1256, v.17, p. 71-89, julho a dezembro de 2006.

NUNES, Y. R. F.; FAGUNDES, M.; SANTOS, R. M.; DOMINGUES, E. B.S. ; ALMEIDA, H. S.; GONZAGA, A. P. D. **Atividades fenológicas de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) em uma floresta estacional decidual no norte de Minas Gerais**. Laboratório de Ecologia e Propagação Vegetal - Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Montes Claros, MG, Brasil. Revista: Lundiana, p. 99-105, 2005.

OLIVEIRA, A. C. de; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes**. Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió - AL, Brasil Química Nova, vol. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PAIVA SOBRINHO, S. de; SIQUEIRA, A. G. de. **Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. – STERCULIACEAE)**. Curso de ciência biológica, UEG/ Unidade de Porangatu, Goiás. Revista Brasileira de Sementes, v. 30, n. 1, p.114-120, 2008.

PATIL, J. U.; BIRADAR, S.D. **Pharmacognostic study of *Guazuma ulmifolia***. Research and Post Graduate Studies, Department of Botany - Dnyanopasak College Parbhani, Maharashtra, India. International Research Journal of Pharmacy, p. 130 e 131, 2013.

PENG, L.; WANG, Y.; ZHU, H.; CHEN, Q. **Fingerprint profile of active components of *Artemisia salegensis Turcz* by HPLC-PAD combined with chemometrics**. Food Chemistry. v. 125, p. 1064-1071, 2011.

PEREIRA, B. **Radicais livres de oxigênio e sua importância para a funcionalidade imunológica**. Escola de Educação Física da Universidade de São Paulo. Motriz, v. 2, n. 2, 1996.

PRAKASH, A.; RIGELHOF, F.; MILLER, E. **Antioxidant activity**. Med Lab Anal Prog 19(2):1–6. 2001.

RAO, R. J.; TIWARI, A.K.; KUMAR, U.S.; REDDY, S.V.; ALI, A.Z.; RAO, J.M. **Novel 3-O-Acyl Mesquitol Analogues as Free-Radical Scavengers and Enzyme Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation and Structure–Activity Relationship**. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 13, p. 2777-2780, 2003.

RASHEED, A.; REDDY, S.; ROJA, C.; **A Review on a standardization of herbal formulation**. International Journal of Phytotherapy. v. 2, n. 2, p. 74-88, 2012.

RODRIGUES, F.A.; PIMENTA, V. de S. C.; BRAGA, K. M. da S.; ARAÚJO, E. G de. **Obtenção de extratos de plantas do cerrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p.870-887, 2016.

SARTORI, C. J.; CASTRO, A. H. F.; MORI, F. A. **Teores de Fenóis Totais e Taninos nas cascas de Angico-vermelho (*Anadenanthera peregrina*)**. Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras – UFPA, Lavras/MG, Brasil. Floresta e ambiente, p. 394-400, 2014.

SAUTIN, Y.Y.; JOHNSON, R.J. **Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox**. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 27:608–19. 2008.

SCALON, S. de P. Q.; MUSSURY, R. M.; EUZÉBIO, V. L. de M.; KODAMA, F. M.; KISSMANN, C. **Estresse Hídrico no Metabolismo e Crescimento Inicial de Mudas de Mutambo (*Guazuma ulmifolia* Lam.)**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. Ciência Florestal, vol. 21, n. 4, p. 655-662, 2011.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B. da; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. da. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos**. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, CE, Brasil. UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde; 14(4):263-9, 2012.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I. - The quantitative analysis of Phenolic Constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, p. 63-68, 1959.

SWEENEY, A.P., WYLLIE, S.G., SHALLIKER, R.A., MARKHAN, J.L. **Xanthine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants**. Journal of Ethnopharmacology 75, 273–277. 2001.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. de F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L. T. **Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação**. Universidade Federal de Alagoas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual de Campinas. Química Nova., v.30, n.5, p.1323-1338, 2007.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. de. **Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais.** Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Universitário Petrônio Portela, Teresina – Piauí – Brasil; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), Praça da Liberdade Teresina-PI; Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

ZHANG W.; DOHERTY, M.; BARDIN T.; PASCUAL E.; BARSKOVA V.; CONAGHAN, P.; et al. **EULAR evidence based recommendations for gout.** Part II: Management. Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT). *Ann Rheum Dis.* 65:1312–24. 2006.